

Aus dem Institut für Biophysik am Strahlenzentrum und
dem Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten der Tiere
(Direktor: Professor Dr. G. Lämmle)
der Justus Liebig-Universität Gießen

Ultraviolett-Bestrahlung und Photoreaktivierung bei Oocysten von Eimeria stiedai

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Paul Pick
Tierarzt aus Wangen/Allgäu

Gießen 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546402_0059

Aus dem Institut für Biophysik am Strahlencentrum und
dem Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten der Tiere
(Direktor: Professor Dr. G. Lämmle)
der Justus Liebig-Universität Gießen

Ultraviolett-Bestrahlung und Photoreaktivierung bei Oocysten von Eimeria stiedai

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Paul Pick
Tierarzt aus Wangen/Allgäu

Gießen 1974

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin in Gießen

Dekan: Professor Dr. M. Frimmer

Berichterstatte: Professor Dr. J. Kiefer

Professor Dr. G. Lämmle

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juni 1974



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	
1. Vorwort	1
2. Zelluläre UV-Schäden	2
3. Reaktivierungsprozesse	7
4. UV-Bestrahlung und Reparaturprozesse bei Protozoen unter Besonderer Berücksichtigung der <u>Eimerien</u>	10
II. MATERIAL UND METHODIK	
1. Das Untersuchungsmaterial	15
2. Die Strahlenquellen	18
3. Versuchsbedingungen und Versuchsablauf	19
4. Beurteilung des Strahlenschadens	21
5. Verfahren bei der Auswertung und der Darstellung der Ergebnisse	27
III. ERGEBNISSE	
1. Versuchsbedingungen der Hauptversuche	30
2. Die Wirkung der UV-Bestrahlung auf die Sporulation	32
3. Der Einfluß des photoreaktivierenden Lichtes auf den UV-Strahleneffekt	39
4. Maximale Photoreaktivierung und Versuche zur Photo- protektion	46
5. Abhängigkeit der Empfindlichkeit vom Alter	53
6. Sporulationskinetik unter UV-Einwirkung	57
IV. DISKUSSION	64
V. ZUSAMMENFASSUNG	71
VI. LITERATURVERZEICHNIS	73

I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

1. VORWORT

Die Behandlung von Parasiten mit ultravioletem Licht und auch ionisierender Strahlung hat zwei wichtige Aspekte der Anwendung: Einmal die Desinfektion, zum anderen die aktive Immunisierung des Wirtstieres mit bestrahlten Parasiten. In jedem Fall aber ist die Kenntnis von Dosiswirkungsbeziehungen und von Schutzmechanismen der Parasiten gegenüber diesen Strahlen außerordentlich wichtig.

Ein wichtiger Schutzmechanismus gegenüber UV-Strahlen ist die Fähigkeit von Organismen Strahlenschäden mit Hilfe von sichtbarem Licht zu eliminieren, ein Phänomen, das Photoreaktivierung genannt wird und eine breite phylogenetische Verteilung besitzt. So müssen Untersuchungen mit UV-Strahlung unter definierten Lichtverhältnissen durchgeführt werden, da dieser Schutzmechanismus auf den UV-Effekt einen wesentlichen Einfluß besitzt.

Aus den bisherigen Untersuchungen mit UV-bestrahlten Coccidien liegen keine absoluten Dosisangaben vor. Über eine Erholung von dem UV-Strahlenschaden durch geeignete Behandlung berichtet LITWER schon 1938.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, einerseits Dosiswirkungsbeziehungen bei der Coccidienart Eimeria stiedai mittels morphologischer Kriterien umfassend zu untersuchen und andererseits festzustellen, ob dieser Parasit in der Lage ist, Strahlenschäden zu photoreaktivieren.

2. ZELLULÄRE UV-SCHÄDEN

Ultraviolett-Strahlen bewirken an Zellen physikochemische Veränderungen, die eines oder mehrere der folgenden biologischen Ereignisse auslösen:

1. Zelltod (Früh- oder Spättod - GIESE, 1967)
2. Subletale Schäden (z.B. Verlust der Regenerationsfähigkeit; Veränderung der Zellpermeabilität, Erregbarkeit und Beweglichkeit - GIESE, 1969)
3. Mutation (ZETTERBERG, 1964; SMITH und HANAWALT, 1969)
4. Verlangsamung der Zellteilung (nach der 2. oder 3. Teilung und Verzögerung der 1. Zellteilung - DUCOFF, 1963; GIESE, 1967)

Welches dieser Ereignisse eintritt, ist einerseits abhängig von der Strahlung (Bestrahlungsstärke, Dosis, Wellenlänge), andererseits von strahlungsunabhängigen Faktoren (siehe Seite 5). Wenn auch mehrere oder alle Ereignisse gleichzeitig auftreten können, so ist doch im allgemeinen ein Ereignis dominant (GIESE, 1964).

Jedes dieser biologischen Ereignisse stellt einen Komplex zellulären Geschehens dar, wobei ein übergeordnetes Ereignis aus einer Anzahl von zellulären Schädigungen und Schädigungsmechanismen resultiert. Hierauf weisen sowohl experimentelle Untersuchungen (z.B. NEWCOMBE und Mc GREGOR, 1954; FRITZ-NIGGLI und BLATTMANN, 1969) wie auch theoretische Deutungen des Strahleneffekts durch eine multiple Stochastik (z.B. HUG und KELLERER, 1966; KIEFER, 1971) hin.

Von großer Bedeutung für die Erklärung des Strahlenschadens ist die Frage nach den primären Angriffspunkten, deren Schädigung das biologische Ereignis herbeiführen. Es interessiert zunächst vor allem die

Differenzierung folgender Bereiche: Kern (und somit genetisches Material) - Cytoplasma - Zellmembran - Umgebung der Zelle.

GIESE (1964 und 1967), JAGGER (1967) sowie KIMBALL (1955) und WHITSON (1972) fassen die diesbezüglichen Untersuchungen an Protozoen zusammen und heben die DNS des K e r n e s als kritischen Treffbereich hervor. Sie führen dafür folgende Überlegungen an:

Das Theorem von Grothaus-Draper besagt, daß photochemische Reaktionen nur stattfinden, wenn auch Licht absorbiert wird. Ebenso sind photobiologische Reaktionen mit der UV-Absorption verknüpft. Damit lassen die beiden folgenden Befunde auf die DNS als kritischen Treffbereich schließen: Der DNS-Absorptionskoeffizient für kurzwelliges UV-Licht von 254 nm ist etwa dreimal größer als der des Cytoplasmas; das Wirkungsspektrum^{*)} für Inaktivierung hat in vielen Fällen denselben Verlauf wie das Absorptionsspektrum für die DNS.

Ein Schaden an der DNS des Kernes müßte sich weitaus folgenschwerer auswirken als ein Schaden im Cytoplasma, der ja wieder ersetzt werden kann, sofern die DNS-Matrix noch intakt ist.

Untersuchungen werden angeführt, die die mutagene Wirkung des UV-Lichts beschreiben, eine Wirkung, die einhellig ihren Ursprung im genetischen Material hat.

Experimente mit Partialzellbestrahlung weisen eindrücklich auf die große Bedeutung des Kernes hin. Es handelt sich hierbei um eine Methode (SKREEB und ERRERA, 1957; BESSIS, 1965), die es erlaubt, die Wirkung des UV-Lichts zu untersuchen, nachdem entweder nur der Kern, nur das Cytoplasma oder nur bestimmte Organellen mit UV-Licht bestrahlt wurden.

*) englisch: Action Spectrum = Wirksamkeit verschiedener Wellenlängen, ein bestimmtes biologisches Ereignis herbeizuführen.

Im Gegensatz dazu stehen einige Untersuchungen mit Partialzellbestrahlung, die GIESE (1967 und 1969) und JAGGER (1967) anführen, welche das C y t o p l a s m a als kritischen Treffbereich hervorheben. Nach JAGGER spielt u.a. das Größenverhältnis Kern : Cytoplasma eine Rolle dafür, ob Kern oder Cytoplasma den kritischen Treffbereich darstellen.

GAULDEN und PERRY (1958) haben am Neuroblasten des Grashüpfers Chartophaga viridifasciata mittels Partialzellbestrahlung nachgewiesen, daß beide N u c l e o l i wesentlich für die Teilung sind. COOK (1970) weist auf die Zerstörung der Z e l l m e m b r a n durch geringe Dosen von UV-Strahlung hin, die zur Lysis der Zelle führen können.

Die durch UV-Licht von $\lambda = 254$ nm strahleninduzierte chemische Veränderung der U m g e b u n g der Zelle, der sog. indirekte Strahleneffekt, hat nach übereinstimmender Ausführung aller Autoren keine Bedeutung: Als indirekter Strahleneffekt käme vor allem eine Schädigung der Organismen durch die Bildung von Ozon durch UV-Licht in Frage; doch findet diese Bildung im sehr kurzwelligen Bereich (Maximum bei $\lambda = 150$ nm) statt. Im mittleren UV-Bereich dagegen würde die Strahlung von Ozon absorbiert werden und dieses spalten (Maximum bei $\lambda = 250$ nm). Außerdem ist die Ozon-Wirkung qualitativ verschieden von der des UV-Lichtes. Unter Wirkung von Ozon blähen sich die Zellen auf, bekommen Blasen und platzen schließlich (GIESE, 1967).

Die Wirkung von Wasserstoffperoxyd, gebildet durch UV-Licht in Wasser, kann auf analoge Weise ausgeschlossen werden, nicht hingegen die Bildung von Peroxyden innerhalb der Zellen.

Zur Aufklärung des strahlenchemischen Prozesses haben Untersuchungen an Viren und Bakterien, sowie an DNS und Proteinen in vitro maßgebend beigetragen (Zusammenfassungen bei JOHNS, 1967; J. SETLOW, 1966a; R.B. SETLOW, 1968b; SMITH, 1969; VARGHESE, 1972).

Bei den bisher nachgewiesenen strahlenchemischen Veränderungen wird die größte Bedeutung der Entstehung von Pyrimidindimeren in der DNS-Kette und von DNS-Proteinvernetzungen zugemessen. Eine große Beachtung findet insbesondere das Thymindimer, welches das häufigste und beständigste der bei UV-Bestrahlung entstehenden Pyrimidindimeren ist und als Inaktivierungsmechanismus eine überragende biologische Bedeutung hat (J. SETLOW, 1966a; R.B. SETLOW, 1968a; SMITH und HANAWALT, 1969).

Unzweifelhaft spielt auch bei Eukaryonten*) dieser Inaktivierungsmechanismus die größte Rolle, zumal die Bildung von Thymindimeren nach UV-Bestrahlung auch bei Säugetierzellen und Protozoen nachgewiesen wurde (TROSKO, CHU und CARRIER, 1965; WHITSON, 1972).

Bezüglich weiterer strahlungschemischer Veränderungen von Nukleinsäuren, Proteinen und anderen Zellbestandteilen, die eine mehr oder weniger untergeordnete Rolle spielen, sei auf die oben angeführten Zusammenfassungen verwiesen.

Strahlungsunabhängige Faktoren, die einen Einfluß auf den biologischen Strahlungseffekt haben, seien im folgenden angeführt:

Behandlung mit Licht vor, während und nach der UV-Exposition (siehe Kap. I/3);

Temperatur vor, während und nach der UV-Exposition, sowie anaerobe Bedingungen und das Alter des Organismus (siehe Kap. I/4);

photosensibilisierende Faktoren wie das Thyminanalogon 5-Bromuracil (GIESE, 1969);

der osmotische Druck und die Wasserstoff-Ionen-Konzentration des Mediums (GIESE, SMITH und BERRY DAU, 1965);

der physiologische Status (Hunger) (BRAND, SHEPARD und GIESE, 1955);

Spezies und sogar Klone derselben Spezies (GIESE und REED, 1940);

der Zellzyklus (GIESE, 1967).

*) Begriff siehe bei WEBERLING und SCHWANTES (1972)

Die Abhängigkeit des Strahleneffektes von der Dosis findet ihre Darstellung in der auch in der Pharmakologie üblichen Dosis-Effekt-Kurve. Wird die Fähigkeit von Organismen, nach der UV-Bestrahlung zu überleben (d.h. vom mikrobiologischen Standpunkt her gesehen sich unbegrenzt zu teilen, also eine Kolonie zu bilden), als Kriterium für den Strahleneffekt benutzt, spricht man von Überlebenskurven. Dieses Kriterium ist eines der wichtigsten und am häufigsten gebrauchten in der Strahlenbiologie.

Das Überlebensereignis ist ein physiologischer Prozess und im allgemeinen auch sehr einfach bei den verschiedenen Organismen zu erkennen.

Hingegen liegen dem durch UV-Strahlung herbeigeführten Untergang eine vielfältige Pathologie sowie komplexe strahlenchemische und biochemische Abläufe zugrunde. GIESE (1969) führt hierzu an: "Eine hohe Dosis UV-Licht führt zum Schrumpfen und Absterben oder aber zum Wachstum und dann zur Teilung der Zelle, nachdem sie zuvor stunden-, tage- oder wochenlang am Leben blieb, ohne zu wachsen; doch auch die Teilung kann zum Tode führen, wenn eine Letalmutation entsteht."

Subletale Dosen führen zu einer Verzögerung der Zellteilung, die zwei Phasen erkennen läßt (GIESE, 1967): Eine Verzögerung der 1. Teilung (engl. genannt "lag") und eine weitere Verzögerung nach der 1. oder 2. Teilung (engl. genannt "stasis"). Die erste Verzögerung ist temperaturunabhängig, während die zweite Verzögerung durch höhere Temperaturen verstärkt wird. Der Angriffspunkt für das Ereignis "Teilungsverzögerung" dürfte ebenfalls die DNS sein, denn erstens ist das Ereignis photoreaktivierbar (siehe Kap. I/3), und zweitens wird der Effekt durch Bromuracil sensibilisiert (COOK, 1970). Bromuracil, als Thyminanalogon in die DNS eingebaut, sensibilisiert gegen die UV-Strahlenwirkung durch eine höhere UV-Absorption sowie durch eine Blockierung der Reparaturprozesse.

3. REAKTIVIERUNGSPROZESSE

Einen wesentlichen Einfluß auf die Auswirkung von molekularen Schäden der mit UV-Licht bestrahlten Zelle haben sogenannte rückläufige Prozesse; d.h. die Zelle ist in der Lage, Strahlenschäden zu eliminieren. Diese im molekularen Bereich stattfindende Reparatur führt zu einer Milderung des biologischen Schadens - zur Reaktivierung der geschädigten Zellen.

In zahllosen Untersuchungen ist dieses für die Evolution des Lebens so wichtige Phänomen erforscht worden. Man hat bis heute festgestellt, daß es sich bei diesen Reparaturvorgängen im wesentlichen um folgende enzymatische Prozesse handelt, welche genetisch gesteuert werden:

Die Exzisionsreparatur und die Rekombinationsreparatur, welche unter dem Begriff der sog. Dunkelreparatur zusammengefaßt werden, da bei diesen Prozessen kein sichtbares Licht benötigt wird (RADMAN et al, 1970; VARGHESE, 1972; KIEFER, in Vorbereitung);

die Photoreaktivierung, ein Reparaturprozess, der auf die Mitwirkung von sichtbarem Licht angewiesen ist (JAGGER, 1960; RUPERT, 1964; J. SETLOW, 1966a; COOK, 1970).

Bei der Exzisionsreparatur wird von der Zelle ein komplexes System von Enzymen eingesetzt, welches den Schaden am DNS-Strang erkennt, ausschneidet, das auszuschneidende Stück mit Hilfe des komplementären Stranges neu synthetisiert und dieses neue Stück schließlich einsetzt. Es handelt sich hierbei um einen universellen Reparaturprozess, welcher nicht nur Pyrimidindimere eliminiert, sondern auch Vernetzungsschäden und Strangbrüche.

Bei der Rekombinationsreparatur werden defekte Teile eines DNS-Stranges gegen analoge ungeschädigte DNS-Stränge ausgetauscht in einem Prozess, der der genetischen Rekombination gleicht.

Um einen vergleichsweise einfachen Prozess handelt es sich bei der Photoreaktivierung. Hier wird durch ein einziges Enzym ein Pyrimidindimer am DNS-Strang an Ort und Stelle monomerisiert.

Hinweise darauf, daß eine Milderung des UV-Effektes eintritt, wenn Organismen anschließend an die UV-Bestrahlung mit sichtbarem Licht behandelt werden, lassen sich bis 1904 zurückverfolgen. Klar erkannt wurde das Phänomen der Photoreaktivierung 1949 unabhängig voneinander sowohl von KELNER als auch von DULBECCO (Ref. bei DULBECCO, 1955).

Seither wurde die Photoreaktivierung an einer großen Anzahl von biologischen Objekten untersucht. Es sind in diesem Zusammenhang vier Mechanismen zu unterscheiden (COOK, 1970; RUPERT, 1964; J. SETLOW, 1966b), wovon im strengen Sinne nur der erste als Photoreaktivierung zu betrachten ist:

1. Die "direkte photoenzymatische Reparatur", ein Prozess, in welchem ein einziges Enzym, das PRE (= photoreactivating enzyme), dessen bisher einziges bekanntes Substrat das Thymin-dimer ist, dieses unter Mitwirkung von Licht (wirksame Wellenlänge zwischen $\lambda = 300$ und 400 nm) monomerisiert. Möglicherweise wirkt es auch auf andere Pyrimidindimere.
2. Die "indirekte Photoreaktivierung"; hierbei bewirkt Licht im Bereich der Wellenlänge $\lambda = 334$ nm eine Verzögerung der Teilung bzw. der Entwicklung. In dieser Verzögerungsphase hat die Zelle wahrscheinlich die Möglichkeit, durch Dunkelreparatur eine meßbare Milderung des Schadens zu bewirken. Die Behandlung mit Licht kann sowohl nach wie auch vor der UV-Exposition erfolgen. Im letzteren Falle spricht man auch von Photoprotektion.

3. Die "direkte nicht enzymatische photochemische Monomerisierung" von Dimeren; sie beruht darauf, daß das UV-Licht sowohl durch das Thymin wie auch von dessen Dimer absorbiert wird, was jeweils die Umwandlung von dem einen zum anderen zur Folge hat. So entsteht ein photochemisches Gleichgewicht, wobei die Dimerbildung bei UV-Wellenlängen von $\lambda = 280$ nm durch ein Überwiegen der Absorption des Monomers begünstigt ist. Für kürzere Wellenlängen von $\lambda = 240$ nm überwiegt die Spaltung des Dimers, welches in diesem Bereich stärker absorbiert. Dieser Effekt kann nur bei in vitro bestrahlter DNS nachgewiesen werden, denn es werden so hohe Dosen benötigt, daß Organismen nicht überleben können.
4. Die "antagonistische Photoreaktivierung"; hierbei mildert eine zweite UV-Bestrahlung die Auswirkungen des ersten Strahlenschadens ohne ihn zu reparieren. Dieses Phänomen beschrieben 1946 BLUM und TERUS beim Erythem des Menschen. Hier liegen jedoch mit Sicherheit gänzlich andere Verhältnisse vor als bei den untersuchten zellulären Effekten.

Es hat sich nun herausgestellt, daß die bei einer Vielzahl biologischer Objekte feststellbare Photoreaktivierung fast ausschließlich ein Effekt der direkten photoenzymatischen Reparatur ist. Bei den meisten untersuchten biologischen Objekten wurde das PRE nachgewiesen oder zumindest wahrscheinlich gemacht.

COOK (1970) gibt eine Zusammenfassung der Methoden zum direkten Nachweis des PRE. Zugleich gibt er eine Übersicht über die breite phylogenetische Verteilung der direkten photoenzymatischen Reaktivierung. Lediglich transformierbare*) Bakterien und Säugetierzellen stellen eine Ausnahme dar. Es scheint nun festzustehen, daß diese beiden Gruppen keinen direkten photoenzymatischen Repair besitzen.

*) Begriff und Phänomen siehe bei R. KNIPPERS (1971)

4. UV-BESTRAHLUNG UND REPARATURPROZESSE BEI PROTOZOEN UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER EIMERIEN

Nachdem Ende des vorigen Jahrhunderts die abtötenden Eigenschaften des UV-Lichts an Bakterien entdeckt wurden (DOWNES und BLUNT, 1877), richtete sich das Interesse an der Wirkung dieser Strahlung zunächst auf den Menschen. Die komplexe Struktur der menschlichen Haut stellte sich dabei als ungeeignet heraus, die Wirkung des UV-Lichts zu analysieren, so daß zu Beginn dieses Jahrhunderts auf die Protozoen als bevorzugtes Objekt zurückgegriffen wurde. Sie waren einfache Organismen, welche in Suspensionen gehalten und darin einzeln oder in einer einzigen Schicht bestrahlt werden konnten. Erste grundlegende Untersuchungen an Protozoen mit UV-Strahlen machten SERAPIN (1902) und DREYER (1903 und 1904).

Die UV-Wirkung an Protozoen war zwar leicht meßbar und mikroskopisch zu beobachten, doch für die Erforschung der den UV-Schäden zugrundeliegenden biochemischen Abläufe erwiesen sich diese ebenfalls als zu kompliziert. Nun wandte sich das Interesse wieder den Bakterien und auch den Viren zu, an welchen seither die wesentlichsten strahlenchemischen Veränderungen geklärt wurden.

In der Folge gewannen jedoch auch Eukaryonten wieder an Beachtung, zumal die Partialzellbestrahlung die Möglichkeit erschlossen hatte, die Wirkung des UV-Lichts auf Teile der Zelle oder auf die hochdifferenzierten Organellen von Protozoen zu untersuchen (siehe auch Kap. I/2). Zudem haben diese Organismen den Vorteil, daß man alle Schritte der Teilung an der einzelnen Zelle beobachten kann.

CALKINS (1964), GIESE (1953, 1964, 1967, 1969), JAGGER (1967) und KIMBALL (1955) stellten die Ergebnisse der Untersuchungen mit UV-Licht bei Protozoen zusammen. Mit dem Phänomen der Photoreaktivierung bei Protozoen befassen sich insbesondere COOK (1970), JAGGER (1958) und WHITSON (1972). Spezielle Angaben über UV-Strahleneinwirkungen auf Coccidien finden sich bei SCHNEIDER, AYENI und DÜRR (1972).

Umfangreiche Untersuchungen zur UV-Empfindlichkeit und zum Reparaturvermögen von Coccidien der Gattung Eimeria stammen von LITWER (1935a, b und 1938a, b). In seiner ersten Arbeit stellte er grundlegende Untersuchungen über die UV-Empfindlichkeit der Oocysten von Eimeria stiedai und E. perforans an, ohne jedoch eine absolute Dosis anzugeben. Wegen der für diese Untersuchungen ungünstigen kürzeren Entwicklungsperiode von E. perforans gibt er der Art. E. stiedai nach ersten Experimenten den Vorzug. In zwei Versuchsserien bestrahlte er einmal Oocysten derselben Entwicklungsstadien mit verschiedenen Dosen, zum anderen Oocysten verschiedener Entwicklungsstadien mit derselben Dosis. Die Oocysten wurden vor jedem Versuch frisch aus Kaninchenkot entnommen.

Aus seinen Experimenten zieht LITWER (1935a) den folgenden Schluß: "Die Empfindlichkeiten der Coccidien-Oocysten gegen Bestrahlung des Ultravioletts ist von den in der Oocyste sich abspielenden Teilungsprozessen abhängig, wobei die maximale Empfindlichkeit mit dem Stadium der Sporoblasten- und Sporozoitenbildung zusammenfällt. Die maximale Empfindlichkeit der Oocysten liegt bei der 16. und 71. Stunde der Entwicklungszeit." Er stellt weiterhin fest: "Diese Gesetzmäßigkeit ist unabhängig von der Dosis und bei ihrer Steigerung tritt nur eine entsprechende Erhöhung der Prozentzahl der Oocystenzerstörung aller Entwicklungsstadien ohne Beeinflussung der oben erwähnten wechselseitigen Beziehungen ein."

Als Kriterium der Strahlenwirkung verwendet er die Prozentzahl der unentwickelten Oocysten (einschließlich der Mißformen). Eine sporulationshemmende Wirkung der Strahlung des sichtbaren Lichtes und des

bei UV-Licht gebildeten Ozons wurde durch Kontrollversuche mit von Glas bedeckten Petrischalen ausgeschlossen.

Zwei Arbeiten LITWERS aus dem Jahre 1938 untersuchen die Bedeutung von Temperatur und von anaeroben Bedingungen für den Effekt von UV-Strahlen auf Oocysten von E. magna. Er fand, daß Temperaturen von -1° bis $+26^{\circ}$ C vor und während der Strahlenexposition keinen Einfluß auf den Effekt der UV-Strahlung ausüben, sofern das Entwicklungsstadium nicht etwa während der Temperaturvorbehandlung fortgeschritten war. So wurde ein Ansteigen der Empfindlichkeit der Oocysten gegenüber der UV-Strahlung bemerkt, wenn diese 3 Stunden zuvor bei $+26^{\circ}$ C gehalten wurden. In diesem Falle kennzeichnete sich das Fortschreiten der Entwicklung durch morphologische Veränderungen. Ebenfalls ohne Einfluß blieb eine Nachbehandlung der Oocysten mit Temperaturen zwischen $+17^{\circ}$ und $+27^{\circ}$ C.

Die Empfindlichkeit der Oocysten gegenüber UV-Strahlen war jedoch beträchtlich geringer, wenn sie anschließend bis zu 18 Tagen mit Temperaturen zwischen -1° und $+8^{\circ}$ C behandelt wurden. So berichtet der Autor beispielsweise von einem Absinken der Zerstörungsrate von 90 % bei einem Tag Nachbehandlung mit einer Temperatur zwischen 0° und -1° C auf 25,4 % bei 18 Tagen Nachbehandlung.

In diesem Temperaturbereich von -1° bis $+8^{\circ}$ C werden die Oocysten in ihrer Entwicklung gehemmt. Zwischen -1° und $+4^{\circ}$ C ist die Hemmung vollständig. Eine Sporulation setzt erst ein unter normalen Bedingungen^{*)}. Zwischen $+4^{\circ}$ und $+8^{\circ}$ C ist die Sporulation verlangsamt, so daß sie bei $+8^{\circ}$ C 18 Tage dauert gegenüber 70 Stunden bei $+20^{\circ}$ C.

So stellt LITWER aufgrund dieser Experimente fest, "daß Oocysten sich umso mehr von dem UV-Schaden erholen, je länger und je tiefer (Temperatur) die Ruhepause ist".

*) Es ist zu vermuten, daß es sich hier nicht, wie von LITWER angenommen, um eine vollständige Hemmung, sondern nur um eine extreme Verlangsamung der Sporulationsvorgänge (DÜRR, pers.Mitteilung) handelt. Neueste Ergebnisse von COUDERT (pers.Mitteilung) machen wahrscheinlich, daß ein diese Verlangsamung wesentlich beeinflussender Faktor die O_2 -Spannung des Suspensionsmediums ist.

Anaerobe Bedingungen nehmen ebenfalls die Entwicklung der Oocysten. Die Resultate einer entsprechenden zweiten Serie von Experimenten LITWERS (1938b) sind den vorigen analog. Wurden die Oocysten nach der UV-Exposition während 18 Tagen in einer Wasserstoffatmosphäre aufbewahrt, so erniedrigte sich die Zerstörungsrate auf 46,1 % gegenüber 94,2 % nach nur 24 Stunden unter denselben Bedingungen. Eine längere Aufbewahrung unter anaeroben Bedingungen als 18 Tage führte wieder zu einem Anstieg der Zerstörungsrate, weil auch unbestrahlte Oocysten unter anaeroben Bedingungen nicht länger als 24 Tage überleben können.

Die Anwendung von Temperaturen in dem von LITWER benutzten Bereich beeinflusst ebenso die Reparaturfähigkeit von Amöben und Säugetierzellen (SKREEB und EGER, 1971; ELKIND et al, 1965).

Eine Vorbehandlung mit Temperaturen zwischen 15° und 25° C beeinflusst die UV-Empfindlichkeit von Chilomonas paramecium (JOHNSON, 1961). Diese Empfindlichkeitsänderung scheint korreliert zu sein mit dem Volumen der Zellen und der Gesamtmenge der Nucleinsäuren.

Bei Paramecium aurelia ist eine Abhängigkeit der Empfindlichkeit gegenüber UV-Strahlen vom Alter festgestellt worden (SMITH-SONNEBORN, 1971). Das Alter wird hier jedoch definiert als die Anzahl der Teilungen seit einer Konjugation des genetischen Materials der Zelle. Weiterhin wurde in dieser Untersuchung festgestellt, daß die Effektivität der Photoreaktivierung und der Dunkelreparatur vom Alter abhängig ist.

DORR und REISER (1972) stellten fest, daß das Alter der Oocysten, d.h. die Dauer der Aufbewahrung bei 4° C (um den Beginn der Sporulation zu verzögern), die Wirksamkeit der Bestrahlung deutlich beeinflusst, wenn die Oocysten am 30. Tag nach der Bestrahlung ausgezählt wurden. Eine Zunahme der Empfindlichkeit konnte bemerkt werden, wenn die Oocysten älter als 6 Wochen waren.

Der Strahlenschaden äußerte sich bei denselben Oocysten deutlicher, wenn sie am 30. Tag nach der Bestrahlung ausgezählt wurden als wenn die Auszählung am 6. Tag erfolgte. Diese scheinbare Empfindlichkeitszunahme konnte auf Degenerationserscheinungen voll sporulierter Oocysten zurückgeführt werden.

II. MATERIAL UND METHODIK

1. DAS UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Eimeria stiedai, der Erreger der Gallengangskokzidiose der Kaninchen, gehört zu der ausschließlich parasitär lebenden Einzellerfamilie Eimeriidae (PELLERDY, 1965). Der Entwicklungsgang teilt sich in eine endogene Phase im Wirtsorganismus und in eine exogene Phase ohne Wirt.

Während der endogenen Phase (PELLERDY und DÜRR, 1970; DÜRR, 1972b) vermehrt sich E. stiedai mehrmals durch Agamogonie (Schizogonie) und schließlich einmal durch Gamogonie. Das Geschlechtsprodukt, eine diploide Zygote, bildet eine widerstandsfähige Hülle aus. Die Zygote retrahiert sich in der Regel außerhalb der Wirtszelle von der Hülle und wird zum kugeligen Sporonten. Sporont samt Hülle stellt die Oocyste dar mit einer Größe von 30 - 40 : 16 - 25 μm .

Die Oocyste gelangt über die Gallengänge und den Darm ins Freie. Hier findet die Sporogonie, die exogene Entwicklungsphase (DÜRR, HEUNERT und MILTHALER, 1971; DÜRR, 1972a) statt (Abb. 1): Aus dem runden Sporonten entsteht die erste exogene Generation -vier Sporoblasten- durch eine Reduktions- und eine Reduplikationsteilung. Morphologischer Ausdruck dieser zweifachen Kern- und der darauffolgenden Plasmateilung ist das Kantenstadium sowie das erste Pyramidenstadium. Das zweite Pyramidenstadium kennzeichnet vermutlich die nächste und letzte Kernteilung, wonach die Differenzierung der zweiten exogenen Generation -das sind jeweils zwei Sporozoiten- erfolgt (CANNING und ANWAR, 1968; WAGENBACH und BURNS, 1969; SCHOLTYSECK, MEHLHORN und HAMMOND, 1971).

Die zur Untersuchung verwendeten Oocysten wurden am 21. Tage post infektionem nach einem Verfahren von COUDERT (persönliche Mitteilung) gewonnen:



Abb. 1. Einzelphasen der Sporogonie von Eimeria stiedai. 1, abgerundeter Sporont (Ausgangsstadium); 2 - 6, Stadium der Buckelbildung und erstes Pyramidenstadium; 7, erstes Vier-Kugel-Stadium; 8 - 10, zweites Pyramidenstadium; 11 - 12, Rückbildungsphasen des zweiten Pyramidenstadiums, 11 mit Spitzenfaden; 13, zweites Vier-Kugel-Stadium; 14, Ovalwerden der Sporoblasten und Beginn der Sporozoiten-differenzierung; 15, vollständig sporulierte Oocyste mit fertig ausgebildeten Sporozoiten (nach DÜRR, HEUNERT und MILTHALER, 1971).

An der exenterierten Leber wurde ein Knopfkanüle über die Papilla duodeni in den Ductus choledochus eingeführt und mittels Arterienklemme und Gummiband fixiert.

Das Gallensekret wurde mit einer Spritze aspiriert und danach wurde das Gallengangsystem durch wiederholtes Auffüllen mit Aqua dest. ausgewaschen. Die so erhaltene Oocystensuspension wurde durch mehrmalige Zentrifugation in Leitungswasser oder Aqua dest. gereinigt.

2. DIE STRAHLENQUELLEN

Als UV-Strahlenquelle diente eine Quecksilber-Niederdrucklampe der Firma Osram, Typ HNS 12 mit einer Dosisleistung von $18 \text{ erg mm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ in einem Abstand von 30 cm. Das Maximum der Emission (86 %) liegt bei der Wellenlänge von $\lambda = 254 \text{ nm}$. Die Bestrahlungen fanden statt nach einer Anwärmzeit der Lampe von 20 Min. Die Dosisleistung wurde mittels Thermosäule und chemischer Aktinometrie (HATCHARD und PARKER, 1956) bestimmt.

Zur Photoreaktivierung wurde eine Original-Hanau-Quecksilber-Hochdrucklampe der Quarzlampen-GmbH Hanau, Typ Q 600 S mit Luftkühlung verwendet. Der Abstand Probe-Strahlenquelle betrug 17 cm. Wellenlängen unter $\lambda = 300 \text{ nm}$ wurden ausgefiltert durch den Deckel der Petrischalen und eine Glasküvette. Eine Beschreibung des Emissionsspektrum von Hochdruck-Quecksilber-Lampen findet sich bei JAGGER (1967). Der für die Photoreaktivierung wesentliche Teil des Emissionsspektrums liegt zwischen $\lambda = 300$ und 450 nm . Das Licht dieser Strahlenquelle wurde im folgenden als PR-Licht bezeichnet.

3. VERSUCHSBEDINGUNGEN UND VERSUCHSABLAUF

Bis zur Bestrahlung wurden die Oocysten bei 4° C in Aqua dest. aufbewahrt. Erfolgte die UV-Bestrahlung später als 3 Wochen nach Gewinnung der Oocysten, so wurde als Suspensionsflüssigkeit 2%iges Kaliumbichromat verwendet. Vor der Bestrahlung wurde das Kaliumbichromat durch mehrmaliges Auswaschen entfernt.

Für die Bestrahlung wurden 4 cm³ der Oocystensuspension von einer bekannten Dichte (siehe Kap. III/1) in gläserne Petrischalen mit einem Durchmesser von 7 cm abgefüllt, so daß die Suspension mit einer Schichtdicke von 1,5 mm zur Bestrahlung gelangte.

Während einer viertel- bis einer halben Stunde vor der UV-Exposition erwärmte sich die Suspension in den Petrischalen auf Zimmertemperatur (ca. 18° C). Zur Bestrahlung wurde die Suspension auf einen Magnetrührer gebracht, um zu gewährleisten, daß alle Oocysten durchschnittlich die gleiche Bestrahlungsdosis erhalten (Annäherung der Bestrahlungsbedingungen an einen Monolayer).

Zur Photoreaktivierung waren die Petrischalen geschlossen. Um eine zu starke Erwärmung der Suspension zu vermeiden, waren die Proben außerdem mit einer wassergefüllten Glasküvette (Höhe 1,5 cm) bedeckt.

Nach der Bestrahlung wurden der Oocystensuspension 4 cm³ einer 4%igen Kaliumbichromat-Lösung hinzugefügt (= Endkonzentration 2 %) und die Oocysten in einem Brutschrank bei 25° zur Sporulation angesetzt. Täglich wurden die Petrischalen aufgedeckt und geschwenkt um den Zutritt von Luftsauerstoff zu ermöglichen.

Vom Zeitpunkt des Abfüllens in Petrischalen bis zum Verbringen in den Brutschrank wurde in einem abgedunkelten Raum bei künstlichem

Gelblicht gearbeitet. Wurde an mehreren Tagen ausgezählt (siehe Kap. III/1), fand dies bei denselben Lichtverhältnissen statt.

Die sich aus Vorversuchen ergebenden variablen Versuchsbedingungen der Hauptversuche sind in Tabelle 2 (S. 30) wiedergegeben.

Variiert wurden:

1. Die Dauer der UV-Exposition;
2. die Dauer der Behandlung mit sichtbarem Licht direkt nach der UV-Exposition (gekennzeichnet mit PR für Photoreaktivierung);
3. die Dauer der Behandlung mit sichtbarem Licht direkt vor der UV-Exposition (gekennzeichnet mit PP für Photoprotektion);
4. das Alter der Oocysten (Zeit zwischen der Gewinnung der Oocysten und ihrer UV-Exposition - Aufbewahrung bei 4⁰ C);
5. die Aufbewahrungsart der Oocysten vor der UV-Exposition (in 2%iger Kaliumbichromat-Lösung, gekennzeichnet durch K₂Cr₂O₇, oder in Aqua dest., ohne Kennzeichnung).

4. BEURTEILUNG DES STRAHLENSCHADENS

Methodische Hinweise für die Beurteilung der Strahlenwirkung auf Coccidien finden sich bei DÜRR und REISER (1972). Sie bestrahlten unentwickelte Oocysten von E. stiedai mit Röntgen- und Gammastrahlen. Voll sporulierte, teilweise sporulierte, abnormal sporulierte und nicht sporulierte Oocysten wurden gesondert ausgezählt und einzeln ausgewertet. Voll sporulierte und nicht sporulierte Oocysten ergaben sigmoide Dosiswirkungskurven, während teilweise sporulierte und abnormal sporulierte Oocysten paraboloide Dosiswirkungsbeziehungen ergaben.

Ebenso wurde in der vorliegenden Untersuchung die biologische Wirkung der Bestrahlung mit UV-Licht anhand von morphologischen Kriterien bestimmt. In Vorversuchen wurden folgende physiologische und pathologische Erscheinungsformen (Morphologische Typen) festgestellt:

- a: Oocysten mit unverändertem Sporonten (s.S.16, Abb.1, Stadium 1)
- b: Physiologische Entwicklungsstadien (s.S.16, Abb.1, Stadium 2-14)
- c: Vollständige physiologische Ausdifferenzierung der Sporozoiten (siehe S. 16, Abb.1, Stadium 15)
- d: Degenerative Veränderungen im Stadium der Sporozoitenbildung unterschiedlichen Ausmaßes*) (s.S.23, Abb. 2, A - F)
- e: Regelmäßige und unregelmäßige Zweiteilung des Sporonten mit und ohne Differenzierung (siehe S.24, Abb.3, A - C)
- f: Unregelmäßige Dreiteilung des Sporonten mit und ohne Differenzierung (siehe S.24, Abb.3, D - F)
- g: Regelmäßige Sechs- und Achtteilung des Sporonten (ohne Abb.)**)
- h: Veränderungen ohne Teilung des Sporonten (s.S.25, Abb.4, D - F)

*) für Kap. III/6 unterteilt in d⁺ = schwere Degeneration (S.23,Abb.2,A)
und d = leichte Degeneration (S.23,Abb.2,B-F)

**) Diese Formen wurden nur in zwei Proben gefunden, und es wird angenommen, daß sie ursächlich nicht auf die UV-Strahlung zurückzuführen sind. Nach Röntgen- und Gammabestrahlung (DÜRR und REISER, 1972) werden diese pathologischen Teilungsformen häufiger gebildet.

i: Lysis des Sporonten (s.S.25, Abb.4, A - C)

k: Unreife Oocysten (ohne Abb.), nicht ausgezählt, zeigen auch ohne Bestrahlung keine Entwicklung

Diese Erscheinungsformen wurden anhand von vorläufigen Dosiswirkungsbeziehungen klassifiziert und im folgenden Schema (S.22, Tabelle 1) zusammengefaßt, um

1. eine übersichtliche Darstellung ohne Informationsverlust zu gewährleisten,
2. subjektive methodische Fehler hinsichtlich der Klassengrenzen weitgehendst zu vermeiden, indem morphologische Kriterien möglichst in abzählbare Kriterien transformiert wurden,
3. eine Übertragbarkeit der Kriterien auf andere biologische Objekte evtl. zu ermöglichen.

Tabelle 1*)

Morpho- logische Typen	K r i t e r i e n	Kategorie der Schädigung	S c h a d s t u f e	
a, i, h	keine Teilung S.25,Abb.4,A-F und S.16,Abb.1,Stad.1	3		
e, f, g	atypische Teilung S.24,Abb.3,A-F	2	(Kategorie 0+1+2=) II	
b, d	4-Teilung S.23,Abb.2,A-F und S.23,Abb.2,St.2-14	1	(Kat.0+1=) I	alle mit Teilung über- haupt
c	"normale" Sporo- zoiten S.16,Abb.1,St.15	0	0	
			alle mit Vier- teilg.	

*) In einzelnen Fällen wurde das obige Schema modifiziert. Die dazu notwendigen Erläuterungen wurden an entsprechender Stelle in Kapitel III gegeben.

Abb. 2

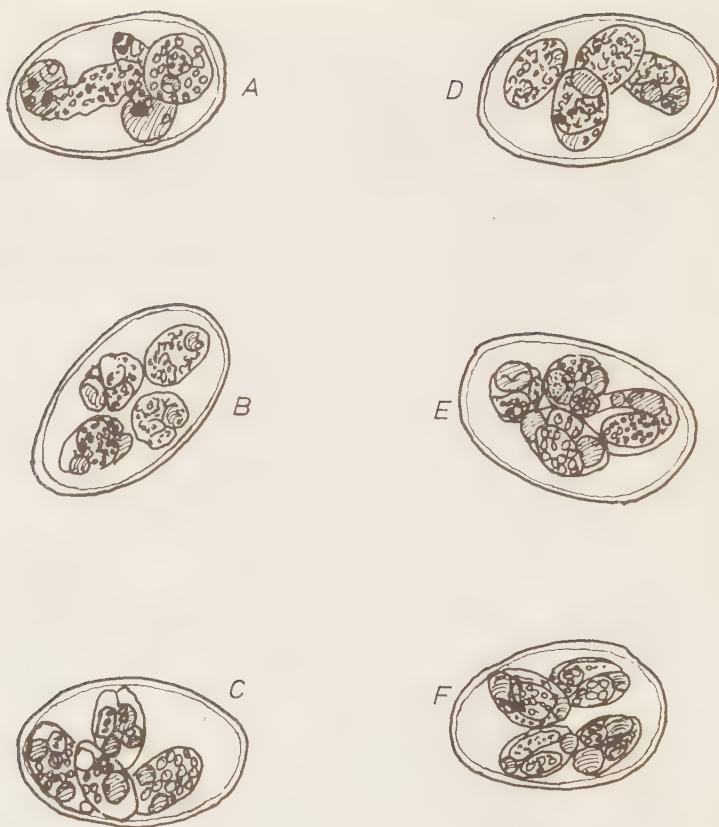


Abb. 2. A - F, morphologische Erscheinungsformen vom Typ d der Kategorie 1 = degenerative Formen im Stadium der Sporozoitenbildung. A, am Übergang zur Klassengrenze der Kategorie 2 (atypische Teilungen); F, am Übergang zur Klassengrenze der Kategorie 0 (normale Sporozoiten). In Tabelle 7, S. 57, wurden B - F zur Kategorie 0_K und A zur Kategorie 1_K gezählt.

Abb. 3

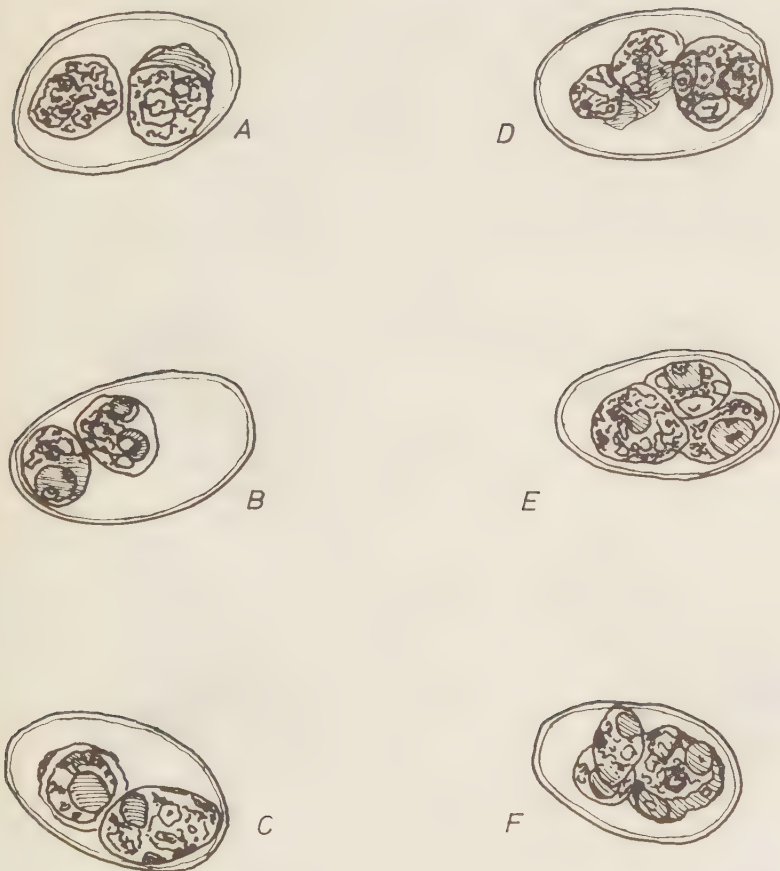


Abb. 3. A - C, morphologische Erscheinungsformen vom Typ e der Kategorie 2 (atypische Teilungen); D - F, morphologische Erscheinungsformen vom Typ f der Kategorie 2 (atypische Teilungen). A, regelmässige Zweiteilung ohne Differenzierung; B, regelmässige Zweiteilung mit Differenzierung; C, unregelmässige Zweiteilung mit Differenzierung; D, unregelmässige Dreiteilung ohne Differenzierung; E und F, unregelmässige Dreiteilung mit Differenzierung.

Abb. 4.

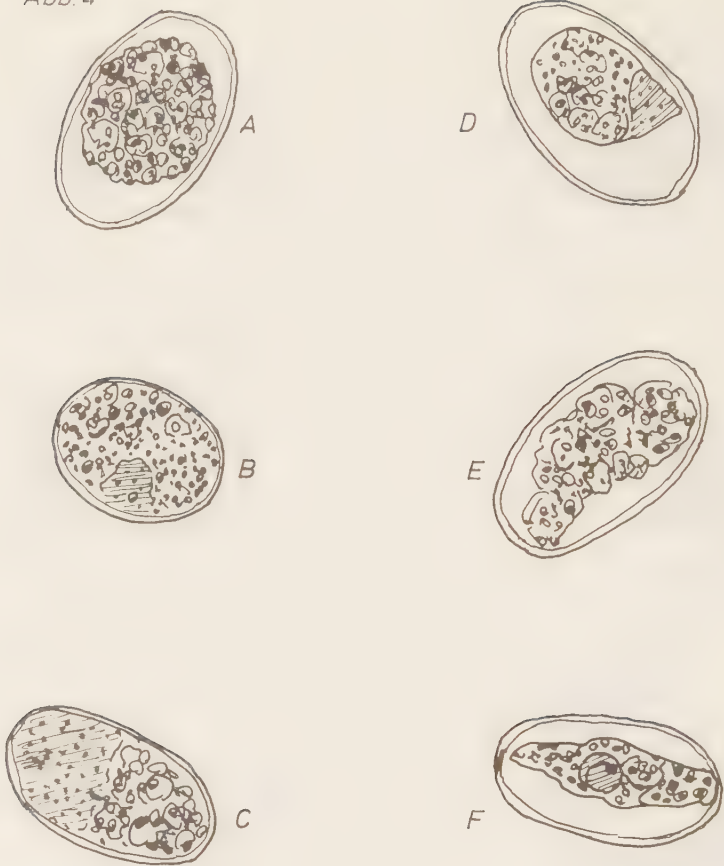


Abb. 4. A - C, morphologische Erscheinungsformen vom Typ i der Kategorie 3 (keine Teilung); D - F, morphologische Erscheinungsformen vom Typ h der Kategorie 3 (keine Teilung). A - C, Lysis des Sporonten; D - F, pathologische Veränderungen ohne Teilung des Sporonten.

Bei der Auszählung wurden die in den Abbildungen 1 - 4 dargestellten physiologischen und pathologischen Typen gegeneinander abgegrenzt und teilweise zu Kategorien zusammengefaßt. Läßt man die Abgrenzung zur jeweils niedereren Kategorie (d.h. geringere Schädigung) fallen und alleine das Kriterium der höheren Kategorie (d.h. stärkere Schädigung) gelten, so erhält man die Schadstufen. Von Stufe zu Stufe gilt ein Kriterium, das eine immer stärkere Schädigung zuläßt und jede folgende Schadstufe beinhaltet eine größere Anzahl von morphologisch normalen und pathologischen Typen.

5. VERFAHREN BEI DER AUSWERTUNG UND DER DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Zur Feststellung der Strahlenwirkung anhand der in Kap. II/4 vorgestellten Kriterien wurden aus den laut Versuchsplan behandelten Petrischalen Stichproben vom Umfang $N_0 = 300$ mikroskopisch ausgezählt. Die Kategorie der Schädigung (0, 1, 2, 3) bzw. die Schadstufe (0, I, II) stellte das Ereignis E (= 0, 1, 2, 3, I, II) dar, welches N_E mal auftrat, also mit der prozentualen Häufigkeit $H_E = 100 N_E/N_0$. Die Entnahme der Stichproben aus den gut durchgemischten Petrischalen geschah zufällig. Die $(1 - 2\alpha)$ Vertrauensgrenzen (Mutungsintervall) für eine 95%ige statistische Sicherheit der festgestellten Häufigkeiten wurden den Tabellen von Documenta Geigy entnommen.

Auf die Darstellung der Häufigkeit H_3 wurde verzichtet, da sie das Komplementärereignis zu H_{II} darstellt ($H_0 + H_1 + H_2 = 100 - H_3$).

Die Dosis-Wirkungsabhängigkeit $H_E(D)$ wurde im halblogarithmischen Maßstab dargestellt. Die Häufigkeiten der Schadstufen ergaben Inaktivierungskurven vom Typ der Schulterkurven. Diese zeichnen sich dadurch aus, daß im halblogarithmischen Maßstab die relative Strahlenempfindlichkeit bei niedrigen Dosen zunächst nur wenig, bei hohen Dosen jedoch asymptotisch exponentiell (im Kurvenbild linear) anwächst.

Zur Charakterisierung von Schulterkurven (GRAIG, 1971 u. 1973; HAYNES, 1966; KIEFER, 1971 und in Vorbereitung; TIMOFEEF-RESSOVSKY, 1972; ZIMMER, 1961) wird die D_0 , D_{37} und die Extrapolationszahl n angegeben.

Schulterkurven können formal durch die Gleichung:

$$\ln(N/N_0) = -R_0 D + n(1 - e^{-R_0 D}) \quad (I)$$

beschrieben werden. Das ist die Lösung des theoretischen Ansatzes:

$$\frac{d(N/N_0)}{dD} = R(D) \times N/N_0 \quad (II)$$

d.h. die Änderung der relativen Strahlenempfindlichkeit mit der Dosis ist abhängig von der Reaktivität R , welche sich im allgemeinen mit der Dosis ändert (HAYNES, 1966; HUG und KELLERER, 1966).

Für hohe Dosen nähert sich die Gleichung (I) im halblogarithmischen Koordinatennetz der Geraden:

$$\ln (N/N_0) = - R_0 D + \ln n \quad (\text{III})$$

mit dem y-Achsenabschnitt n , der auch Extrapolationszahl genannt wird und der Steigung R_0 .

Der Kehrwert von R_0 entspricht der mittleren letalen Dosis D_0 , welche im Bereich der Asymptote die Überlebensrate auf $1/e$ ($\approx 0,37$) vermindert.

Wenn eine rein exponentielle Überlebenskurve vorliegt mit der Form

$$\ln (N/N_0) = - R \times D \quad (\text{IV})$$

entspricht die D_0 der D_{37} .

Die Behandlung von Organismen mit sichtbarem Licht nach der UV-Bestrahlung bewirkt eine Milderung des UV-Effektes (siehe Kap. I/3); ganz allgemein gesagt bewirkt eine Veränderung der Versuchsbedingungen eine Modifikation des UV-Effektes. Ein Maß für diese Modifikation durch eine zusätzliche Behandlung ist der Dosis-Modifikations-Faktor (DMF, dose-modification factor) (DULBECCO, 1955; JAGGER, 1967; RUPERT und HARM, 1966).

Der DMF ist durch folgende Formel definiert:

$$\text{DMF} = \frac{\text{Dosis für einen gegebenen Effekt}}{\text{Dosis für denselben Effekt bei zusätzlicher Behandlung}} \quad (\text{V})$$

Der Bezugspunkt ist also irgendein Effekt (hier N_E/N_0) unter Normalbedingungen mit der Dosis D_N . Durch Modifikation der Versuchsbedingungen wird derselbe Effekt (also $N_E/N_0 = \text{const.}$) bei einer größeren oder kleineren Dosis D_M erreicht.

$$\text{DMF} = \frac{D_N}{D_M} \text{ für } N_E/N_0 = \text{const.} \quad (\text{VI})$$

Wird derselbe Effekt unter veränderten Bedingungen bei einer höheren Dosis erreicht, handelt es sich also um eine Linderung des UV-Effektes, so spricht man vom DRF (dose reduction factor). Er ist definitionsgemäß kleiner als 1. Ist der DMF größer als 1, so gilt die Bezeichnung DEF (dose enhancement factor).

Falls der DMF konstant ist, genügt es, den Faktor und die Art des Effektes (z.B. konstanter DRF von 0,5 für 4-Teilung) anzugeben, anderenfalls muß auch die Höhe des Effektes angegeben werden (z.B. DRF = 0,8 für $N_E/N_0 = 40\%$). Ein konstanter DMF genügt zugleich der Bedingung, daß die Dosiswirkungsbeziehung unter Normalbedingung sowie die Dosiswirkungsbeziehung unter zusätzlicher Behandlung den gleichen Extrapolationspunkt besitzen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der DMF aufgrund der Gleichung (VI) aus der graphischen Darstellung der Versuchsdaten entnommen.

Zur Darstellung der Teilungsverzögerung wird gewöhnlich die durchschnittliche Anzahl der Teilungen über der Zeit aufgetragen (GIESE, 1967). Da jedoch bei der Sporulation der Coccidien besondere Verhältnisse vorliegen (siehe Kap. II/1 und III/6), wurde ein davon abweichendes Verfahren der Darstellung ausgearbeitet:

Die Kurven $H_1(t)$ für $D = \text{konst.}$ stellen die Häufigkeiten des Ereignisses "abgeschlossene 1. Plasmateilung" zur Zeit (t) nach der UV-Exposition dar. Alle weiteren Ereignisse sind ausgeschlossen. Die Häufigkeiten für 2 Plasmateilungen, sowie die Häufigkeiten für atypische Teilungen sind in weiteren zwei Kurvenbildern $H_0(t)$ und $H_2(t)$ für $D = \text{konst.}$ über der Zeit aufgetragen worden. Eine Verzögerung der ersten Plasmateilung (2 Kernteilungen) ist also aus der Kurve $H_1(t)$, eine nach diesen Teilungen auftretende Verzögerung aus der Kurve $H_0(t)$ abzulesen.

Da die Maxima der Kurvenbilder nicht durch Versuche gesichert sind, wurden die 50 % Werte der höchsten gemessenen Häufigkeiten für die jeweilige UV-Dosis als Vergleichsbasis für die Teilungsverzögerung herangezogen (s. auch COUDERT et al, in Druck).

III. E R G E B N I S S E

1. VERSUCHSBEDINGUNGEN DER HAUPTVERSUCHE

In der Tabelle 2 sind die Versuchsbedingungen der Hauptversuche im einzelnen aufgeführt und geben einen Überblick über die unter III/2 bis III/6 dargestellten Versuche.

Tabelle 2

lfd.Nr. des Vers.	Dichte (10 ³ /ml)	Alter der Oocysten	Dauer der PR bzw PP	Auszählung am ...Tage	UV-Dosis*) (sec)	Vorbehand- lung mit K ₂ Cr ₂ O ₇
1.1	400	2 Tage	0	1. - 6.	0 $\xrightarrow{20}$ 180	+
1.8	300	8 Mon.	0	2., 4., 6.	0, 40, 80	+
1.8 PR	300	8 Mon.	15 min PR	2., 4., 6.	0, 40, 80	+
1.9	300	8 Mon.	0	2., 4., 6.	0, 40, 80	+
3.1	200	ca. 5 Std.	0	2., 4., 6.	0 $\xrightarrow{20}$ 80	-
3.2	450	1 Tag	0	2., 4., 6.	0 $\xrightarrow{20}$ 80	-
3.3	750	13 Tage	0	6.	0 $\xrightarrow{10}$ 140	-
3.4	750	14 Tage	10 min PR	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 160	-
3.5	850	14 Tage	0	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 140	+
3.7	450	16 Tage	60 min PR	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 160	-

Forts. Tabelle 2

lfd.Nr. des Vers.	Dichte (10^5 /ml)	Alter der Oocysten	Dauer der PR bzw PP	Auszählung am ...Tage	UV-Dosis*) (sec)	Vorbehand- lung mit $K_2Cr_2O_7$
3.8	450	16 Tage	20 min PP	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 120	-
3.9	450	16 Tage	20 min PR	6.	0 $\xrightarrow{10}$ 140	-
4.0	450	17 Tage	0	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 140	-
4.1	450	17 Tage	100 min PR	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 160	-
4.2	450	17 Tage	40 min PP	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 80, 120	-
4.3	450	17 Tage	30 min PR	6.	0 $\xrightarrow{20}$ 160	-

*) $\xrightarrow{10}$ heißt: in Stufen von 10 sec

2. DIE WIRKUNG DER UV-BESTRAHLUNG AUF DIE SPORULATION

Die Analyse des UV-Strahlenschadens am 6. Tag nach der Bestrahlung in Schadstufen ergab 3 Schulterkurven mit von Stufe zu Stufe größer werden- der Schulter und flacherem exponentiellen Abfall (Abb. 5). Man erhält folgende kennzeichnenden Werte (siehe Kap. II/5):

Tabelle 3

Schadstufe	n (Extrapolationszahl)	D_0 (erg/mm ²)	D_{37} (erg/mm ²)
0	700	70	470
I	12	220	720
II	8,5	470	1440

Werden statt der Schadstufen die Häufigkeiten der Schädigungskategorien 0, 1 und 2 aufgetragen, stellt sich die multiple Dosis-Wirkungsbeziehung als eine Schulterkurve und zwei paraboloiden Häufigkeitsverteilungen dar (Abb. 6). In dieses Kurvenbild wurde die Schadstufe II, welche das Komplementärereignis zur Schädigungskategorie 3 darstellt, ebenfalls mit eingezeichnet.

Die Maxima der paraboloiden Verteilungen liegen

für $H_1(D)$ bei 30 sec/50 % N_1/N_0 ,

für $H_2(D)$ bei 60 sec/55 % N_2/N_0 .

Ist das Maximum der Schädigungskategorie 1 wesentlich niedriger als das Maximum der Schädigungskategorie 2, so erscheint die Suppositionskurve $H_{II}(D)$ zweischultrig. Diese Erscheinung ist beispielsweise in Versuch 3.2 am 4. Tag besonders deutlich geworden (Abb. 7).

In Versuch 3.3 wurde der Typ h (siehe Kap. II/4) gesondert ausgezählt. Die Darstellung der Häufigkeitsverteilung dieses Typs ergibt eine weitere paraboloidale Verteilungskurve $H_h(D)$ mit einem Maximum bei 100 sec/20 % N/N_0 (Abb. 8). Werden die Häufigkeiten $H_h(D)$ in die Summenkurve $H_{II}(D)$ mit einbezogen, entsteht die Schulterkurve $H_{II+h}(D)$ mit der $D_{37} = 2000 \text{ erg/mm}^2$. Die Werte für n und D_0 können hier nicht angegeben werden, da für $H_{II+h}(D)$ im gemessenen Bereich noch keine asymptotisch lineare Neigung auftritt.

Der Einfluß einer Vorbehandlung mit Kaliumbichromat (Vers. 3.5) auf die Empfindlichkeit von Oocysten gegenüber UV-Bestrahlung wurde in den Abbildungen 9 bis 11 mit dem Kontrollversuch (Vers. 3.3) verglichen. Für die Schadstufe I und II ist jeweils eine Häufigkeit signifikant verschieden. Es ist jedoch anzunehmen, daß diese Unterschiede für die gesamte Dosis-Wirkungsabhängigkeit nur eine geringe Bedeutung besitzen, weil sie eher als systematische Fehler gedeutet werden könnten.

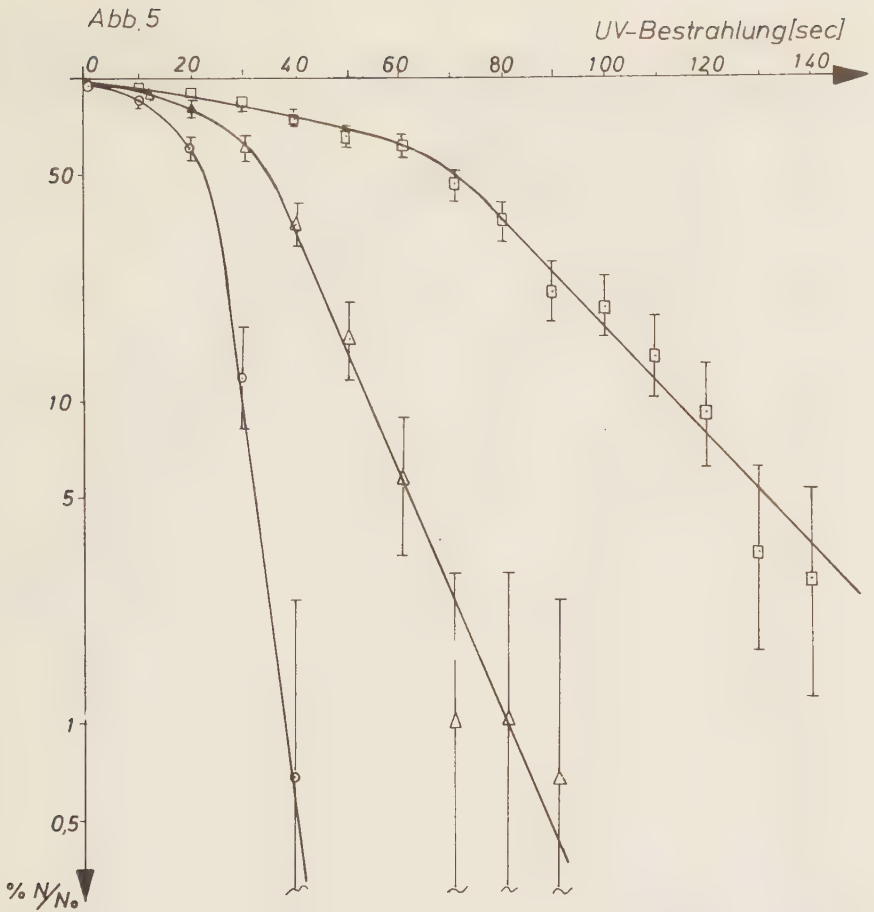


Abb. 5. Die Wirkung der UV-Bestrahlung auf die Schadstufen (Versuch 3.3 UV).
 $\circ$: Schadstufe 0 (Sporozysten); Δ : Schadstufe I (alle mit Vierteilung);
 $\square$: Schadstufe II (alle mit Teilung überhaupt). Die Abbildung zeigt drei
 Schulterkurven für die Schadstufen 0 bis II mit zunehmender D_0 und kleiner
 werdender Extrapolationszahl n .

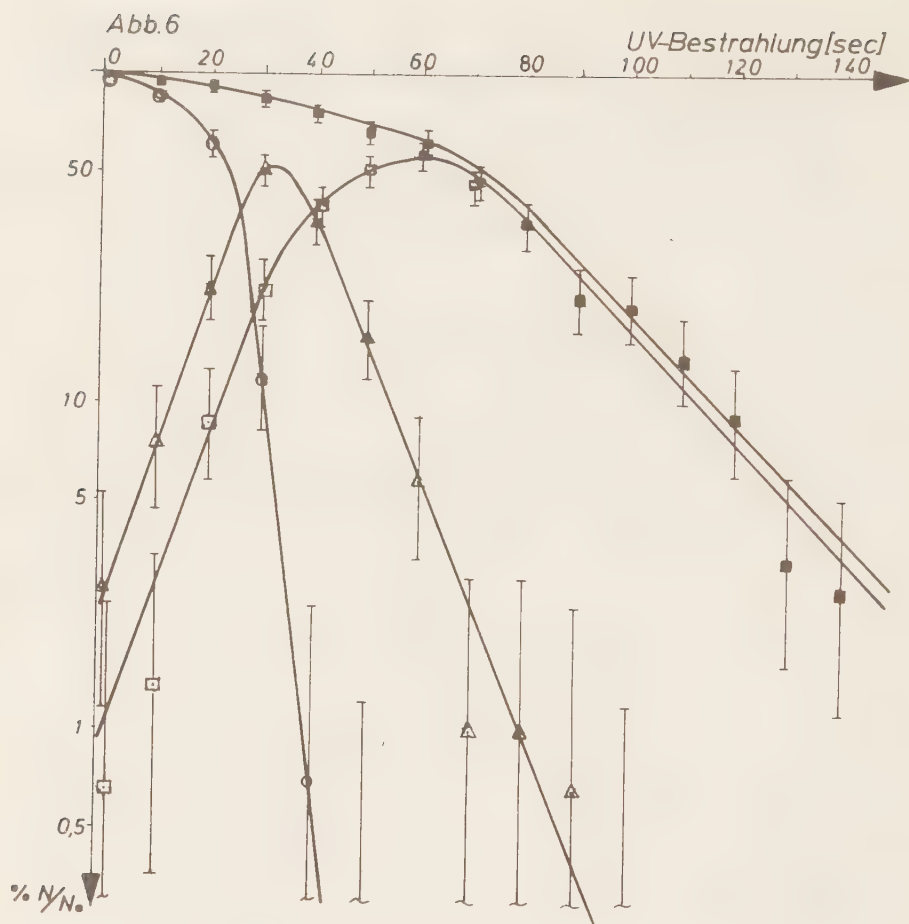


Abb. 6. Die Wirkung der UV-Bestrahlung auf die Kategorien der Schädigung (Versuch 3.3 UV). ○ : Kategorie 0 (Sporozoiten); △ : Kategorie 1 (Vierteilung ohne Differenzierung oder degenerierte Sporozoiten); □ : Kategorie 2 (atypische Teilungen); ■ : Schadstufe II als Suppositionscurve der Häufigkeitskurven der Kategorien (entspricht $100 - H_3$, wobei 3 die Kategorie 3 bezeichnet, d.h. keine Teilung). Das Maximum der paraboloiden Verteilungskurve der Kategorie 2 bestimmt maßgebend die Größe der Schulter der Schadstufe II.

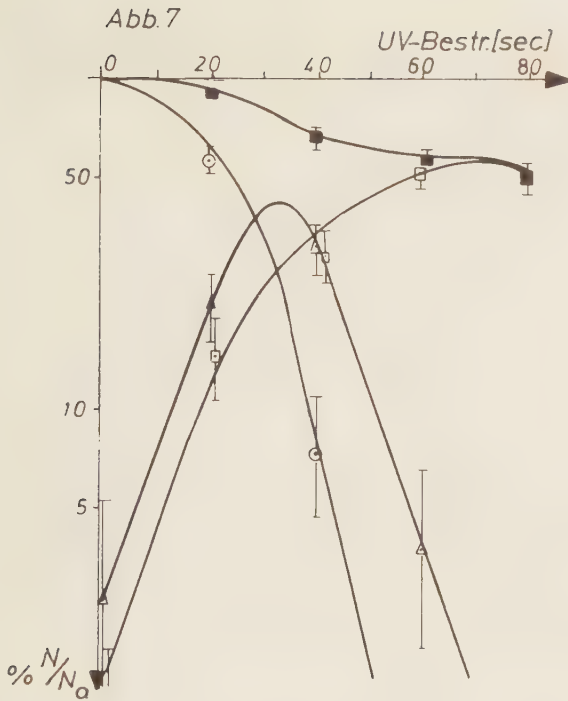


Abb. 7. Der Einfluß der paraboloiden Verteilungskurven auf die Schulterkurve der Schadstufe II (Vers. 3.2, 4. Tag). $\odot$: Kategorie 0 (Sporozoiten); Δ : Kategorie 1 (Viertelung ohne Differenzierung - Degenerationserscheinungen der Sporozoiten treten noch wenig in Erscheinung); $\square$: Kategorie 2 (atypische Teilungen); $\blacksquare$: Schadstufe II (Teilung überhaupt). Eine doppelte Schulter für die Schadstufe II kommt dadurch zustande, daß das Maximum für die Kategorie 1 niedriger liegt als für die Kategorie 2.

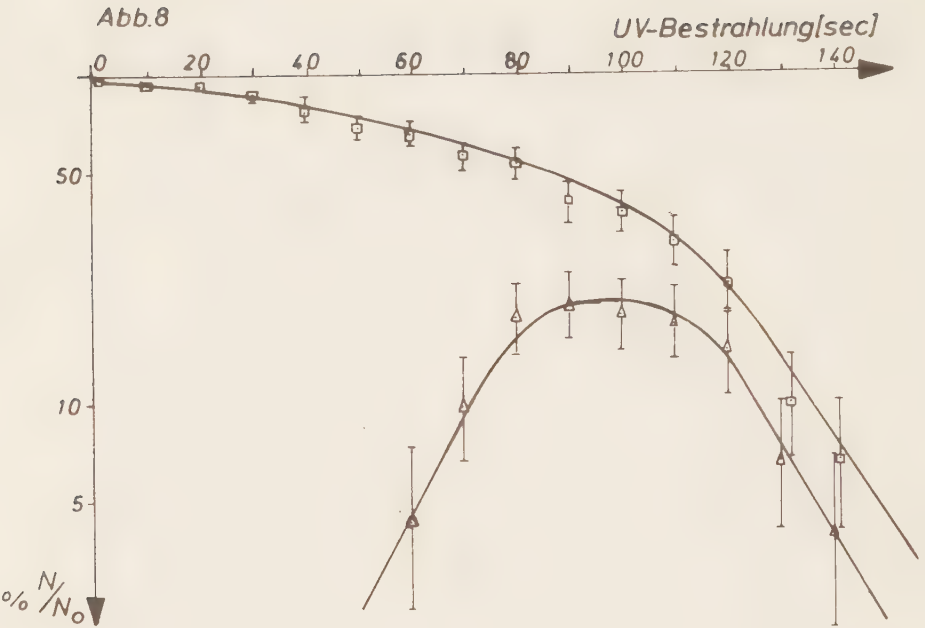
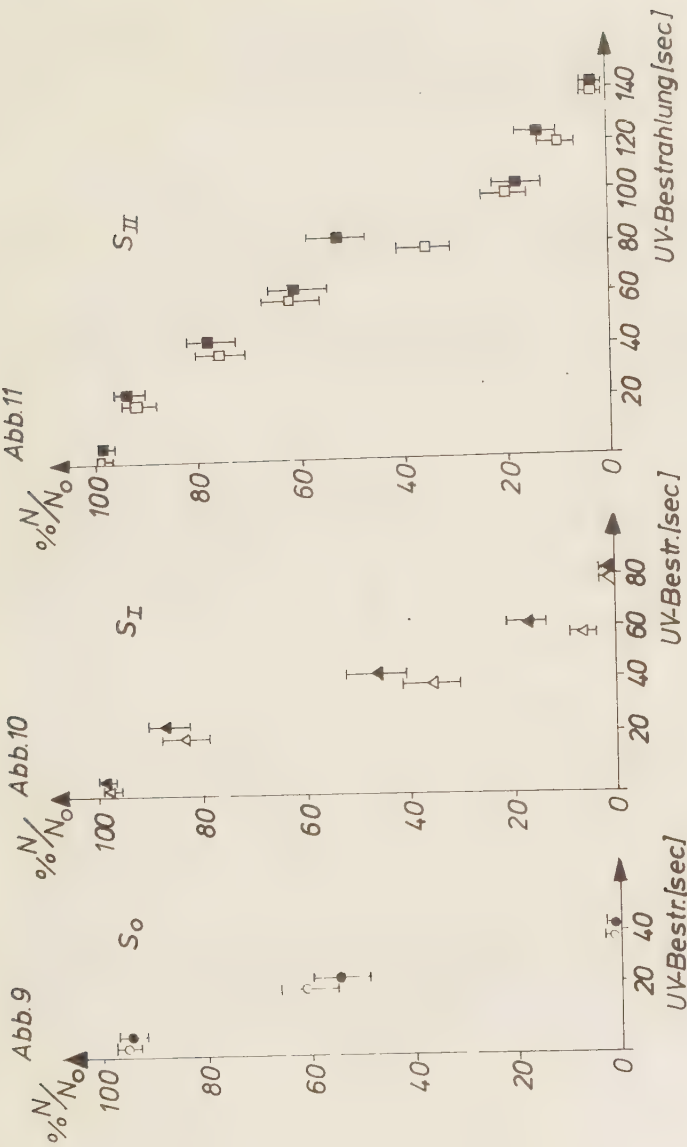


Abb. 8. Die Häufigkeitsverteilung nach UV-Bestrahlung für den Typ h (pathologische Veränderungen ohne Teilung des Sporonten) und die Schulterkurve der Schadstufe II + h (Versuch 3.3 UV, Typ h gesondert). Δ : Typ h; $\square$: Schadstufe II + h. In Vorversuchen führte eine Abweichung der Verteilung für die Kategorie 2 (atypische Teilung) von der Form symmetrisch paraboloider Kurven zur gesonderten Auszählung des Typs h, dessen Verteilung oben dargestellt wurde. In den übrigen Hauptversuchen wurde der morphologische Typ h der Kategorie 3 (keine Teilung) zugeordnet.



Abbr 9 - 11. Vergleich der Häufigkeiten von Versuch 3.3 ohne (○, △, □) und Versuch 3.5 mit (●, ▲, ■) Kaliumbichromat-Vorbehandlung. Für die Schadstufen I und II ist jeweils eine Häufigkeit signifikant verschieden, und zwar für die Schadstufe I für UV = 60 sec und für die Schadstufe II für UV = 80 sec. Dies dürfte einer durch systematische Fehler zu erklären sein als durch verschiedene Dosiswirkungsbeziehungen.

3. DER EINFLUSS DES PHOTOREAKTIVIERENDEN LICHTES AUF DEN UV-STRAHLENEFFEKT

Den Einfluß der Photoreaktivierungsdauer auf das Ausmaß der Mildernung des UV-Effektes untersucht eine Serie von fünf Versuchsreihen (die Versuche 3.4, 3.7, 3.9, 4.1 und 4.3 - siehe Tabelle 2, S. 30).

Wurden die Häufigkeiten H_0 , H_I und H_{II} der Schadstufen für konstante UV-Dosen über der Photoreaktivierungsdauer aufgetragen, ergaben sich die Häufigkeitsverteilungen $H_0(t_{PR})$, $H_I(t_{PR})$ und $H_{II}(t_{PR})$ bei den verschiedenen UV-Dosen (Abb. 12 - 14).

Obwohl eigentlich für die verwendeten Wellenlängen und die untersuchten Einwirkungszeiten kein Einfluß zu erwarten war, zeigt die Verteilung $H_0(t_{PR})$ für UV = 0 sec (Abb. 12) einen hemmenden Einfluß des photoreaktivierenden Lichtes auf das Ereignis "normale Sporulation". Dieser hemmende Einfluß nimmt bis zu einer Photoreaktivierungsdauer von 30 min zu und bleibt dann konstant.

Sodann ist festzustellen, daß für alle Schadstufen nach UV-Bestrahlung ein maximaler Photoreaktivierungseffekt erreicht wird, wenn die Dauer der Nachbehandlung mit sichtbarem Licht zwischen 10 und 20 min liegt. Für die Schadstufe 0 (Abb. 12) war eine Photoreaktivierungsdauer von 10 min, für die Schadstufen I (Abb. 13) und II (Abb. 14) eine Photoreaktivierungsdauer von 20 min am effektivsten.

Beträgt die Photoreaktivierungsdauer mehr als 20 min, fällt die Photoreaktivierungseffektivität für alle Schadstufen mehr oder weniger stark ab, um schließlich ebenso wie die Verteilung $H_0(t_{PR})$ für UV = 0 einen konstanten Wert zu erreichen.

Dieser konstante Wert kann die Häufigkeit der Kontrolle, hier $PR = 0$, erreichen (alle Verteilungen $H_I(t_{PR})$ Abb. 13, sowie $H_0(t_{PR})$ für $UV = 40$ sec Abb. 12 und $H_{II}(t_{PR})$ für $UV = 40$ und 60 sec Abb. 14) oder unterschreiten (die Verteilung $H_0(t_{PR})$ für $UV = 20$ sec Abb. 12).

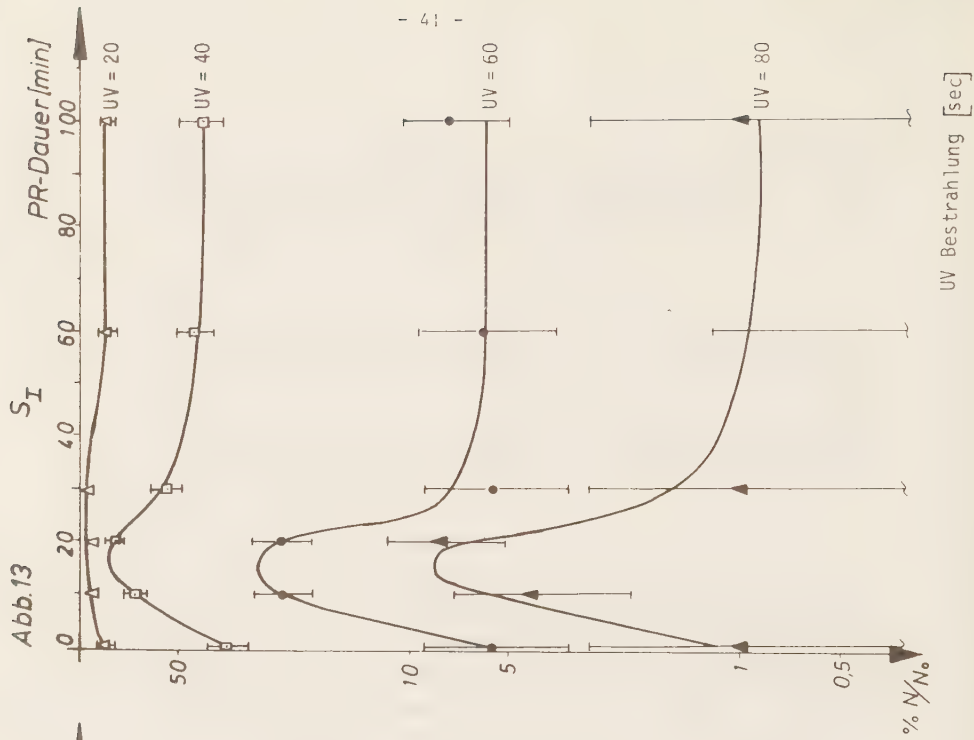
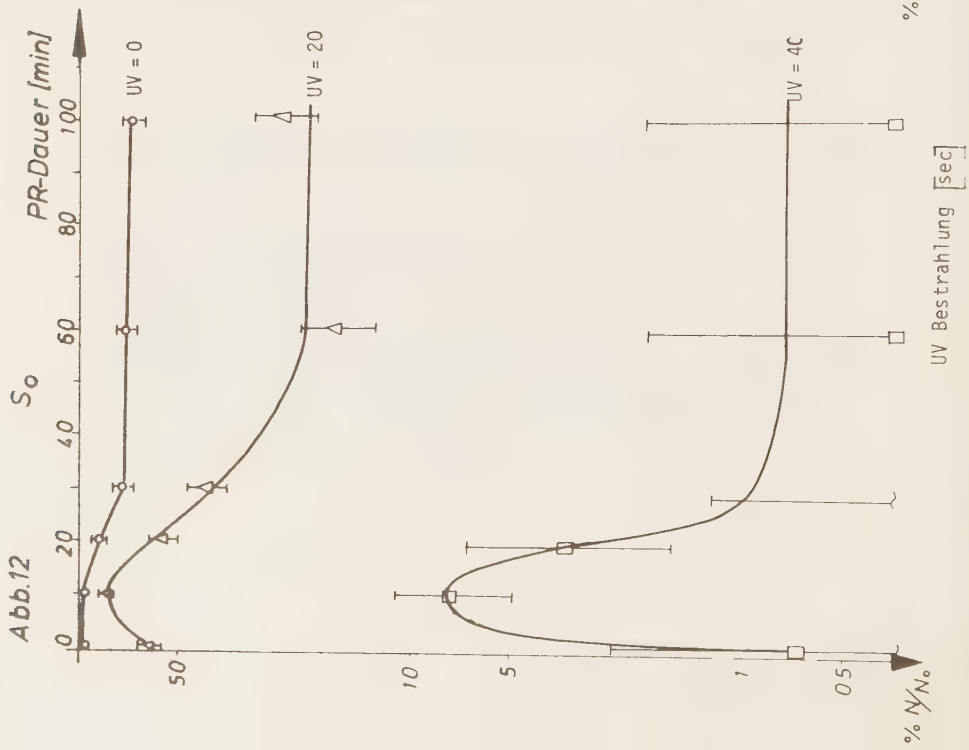
Ein besonderes Verhalten zeigen die Verteilungen $H_{II}(t_{PR})$ für $UV = 80$ und 100 sec (Abb. 14), die außer einem Maximum auch noch ein Minimum aufweisen, sowie die Verteilung $H_{II}(t_{PR})$ für $UV = 120$ sec (Abb. 14), die anzeigt, daß für jede untersuchte Photoreaktivierungsdauer der Dosisreduktionsfaktor $= 1$ ist für $N/N_0 \approx 7\%$ (siehe auch S.47, Tab.5).

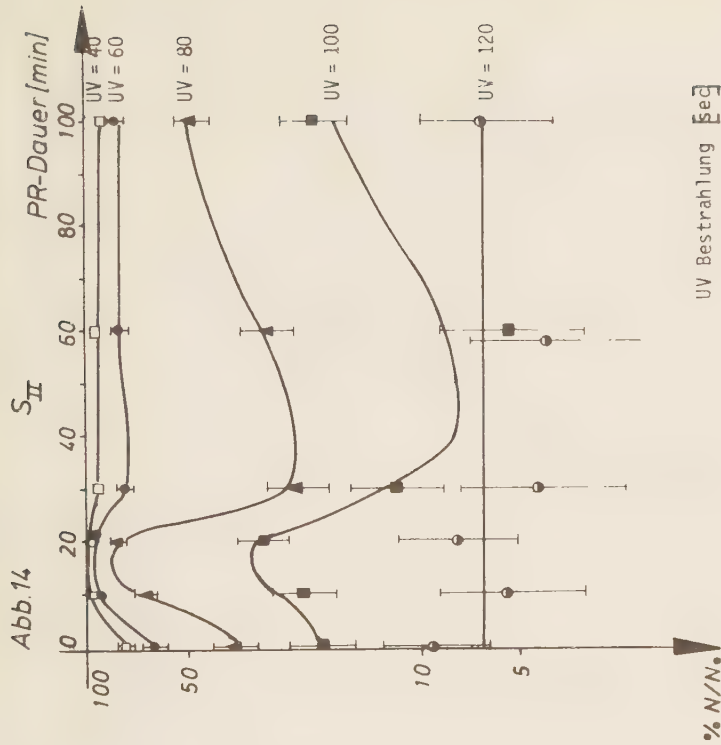
Die schädigende Wirkung des photoreaktivierenden Lichtes zeigte sich auch in den Versuchen zur Photoprotektion. In zwei Versuchsreihen (Vers. 3.8 und 4.2) wurde festgestellt, daß eine 20 bzw. 40-minütige Vorbehandlung mit dem gleichen photoreaktivierenden Licht gegenüber der alleinigen UV-Bestrahlung keine Milderung des UV-Effektes zur Folge hat. Es ist eine Verstärkung der UV-Wirkung auf die Ereignisse E_0 (Sporozoitenausdifferenzierung), E_I (Vierteilung) und E_{II} (Teilung allgemein) zu verzeichnen (Abb. 15 - 17).

Wird diese schädigende Wirkung für die Schadstufe 0 und $UV = 20$ sec den entsprechenden Photoreaktivierungshäufigkeiten hinzugezählt (Abb.18), d.h.

$$H_0 (PR 20 \text{ min}) + [H_0 (PR 0 \text{ min}) - H_0 (PP 20 \text{ min})] \text{ für } UV = 20 \text{ sec}$$

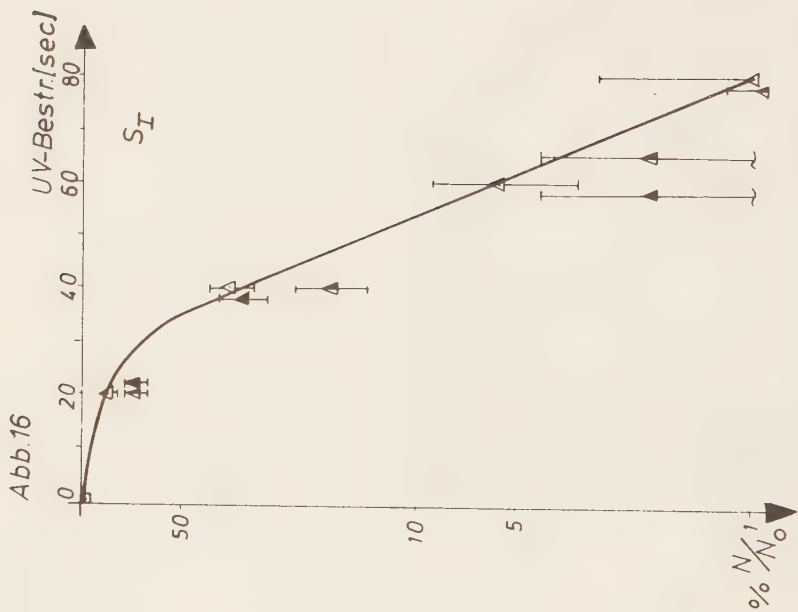
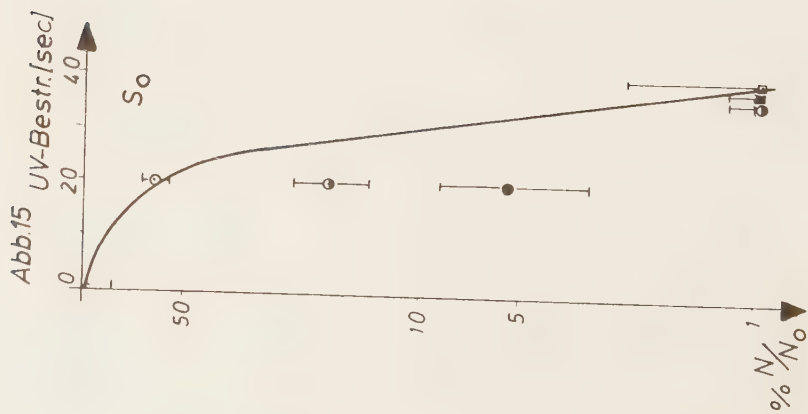
so erhält man eine Photoreaktivierungskurve, die einer Sättigungskurve entspricht. Dies ist nicht der Fall für die Schadstufen I und II, was dafür spricht, daß das photoreaktivierende Licht hier nicht nur eine einfache (additive) Wirkung besitzt, sondern daß auch eine potenzierende (synergistische) Wirkung vorhanden ist.

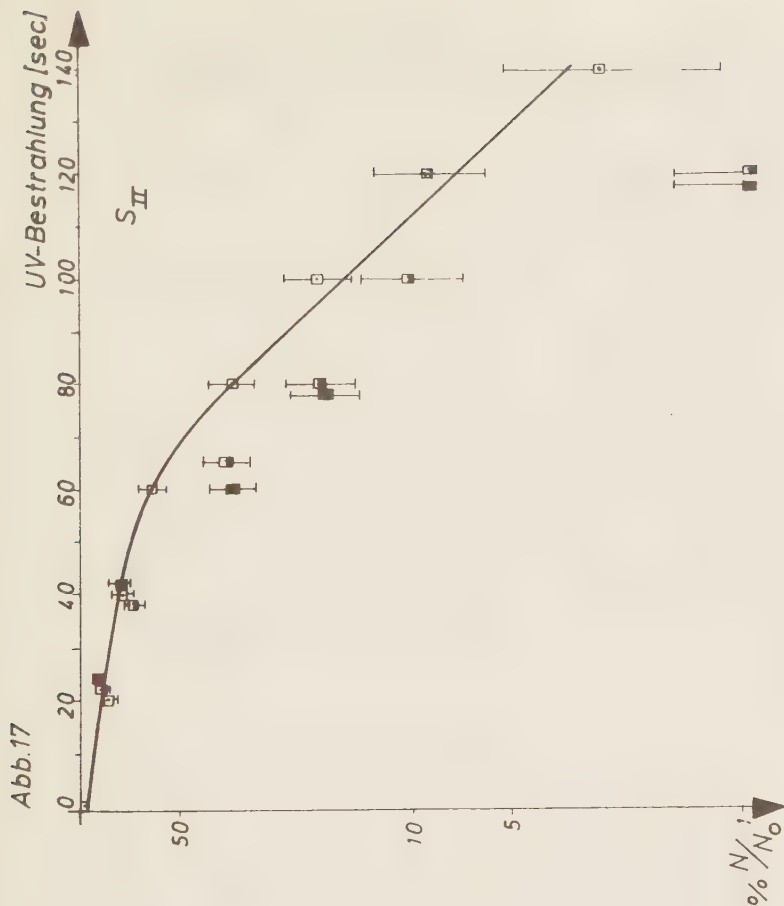




UV Bestrahlung [Jed]

Abb. 12 - 14. Der Einfluß der Photoreaktivierung bei konstanten UV-Dosen für die Schadstufen I - II (Versuche 3.4, 3.7, 3.9, 4.1 und 4.3). Das Maximum der Photoreaktivierung liegt für die Schadstufe 0 (Abb. 12) bei $PR = 10$ min, für die Schadstufen I und II (Abb. 13 und 14) bei $PR = 1$ min. Der hemmende Einfluß des photoreaktivierenden Lichtes macht sich besonders bemerkbar in den Schadstufen 0 und II; hier sinken die Häufigkeiten unter die Werte der Kontrolle ($PR = 0$). In allen Schadstufen wird für höhere Dosen des photoreaktivierenden Lichtes ein Gleichgewicht zwischen den reaktivierenden und der hemmenden Wirkung erreicht.





Abn. 15 - 17. Der schädigende Einfluß des photoreaktivierenden Lichtes vor der LV-Bestrahlung (Versuche zur Photoprotektion) auf die Schdstufen 0 - II (Versuche 3.3, 3.8 und 4.2).

○, △, □, —: LV alleine;
 ○, △, □: LV + PP 20 min;
 ●, ▲, ■: UV + PP 40 min.

Die Photoprotektionsdauer hat für den schädigenden Effekt keinen mit Sicherheit feststellbaren Einfluß, da nur die Meßpunkte PP = 20 und PP = 40 min vorliegen.

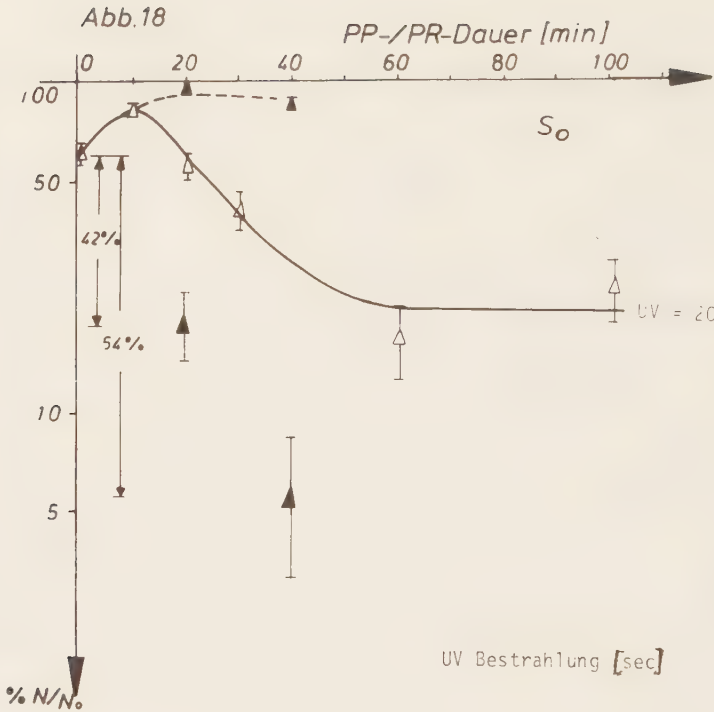


Abb. 18. Die Wirkung der Photoreaktivierung und Photoprotektion für die Schadstufe 0 mit UV = 20 sec (aus den Abb. 12 und 15).
 —△—: Photoreaktivierung für die Schadstufe 0 mit UV = 20 sec;
 ▲ unterhalb der durchgezogenen Kurvenlinie: Die Häufigkeiten aus Versuch 3.8 mit UV = 20 sec und PP = 20 min, sowie Versuch 4.2 mit UV = 20 sec und PP = 40 min. Die Differenz dieser beiden Häufigkeiten gegenüber der Häufigkeit aus der Kontrolle (PR = 0) ist im Diagramm aufgetragen. Wird diese schädliche Wirkung der Photoprotektion den entsprechenden Kurvenpunkten der Verteilung $H_0(t_{PR})$ für UV = 20 sec hinzugezählt, erhält man die durch ▲ bezeichneten Punkte über der durchgezogenen Kurve und die gestrichelte Kurve, eine gewöhnliche Sättigungskurve.

4. MAXIMALE PHOTOREAKTIVIERUNG UND VERSUCHE ZUR PHOTOPROTEKTION

Durch eine 20 Minuten dauernde Photoreaktivierung nach UV-Bestrahlung (Vers. 3.9) verschieben sich gegenüber der alleinigen UV-Bestrahlung (Vers. 3.3) die Maxima der beiden paraboloiden Häufigkeitsverteilungen der Schädigungskategorien 1 und 2 (Abb. 19). Ihnen können un folgende Punkte zugeordnet werden:

Kategorie 1: 38 sec/75 % N/N_0 30 sec/50 % N/N_0 *)

Kategorie 2: 70 sec/75 % N/N_0 60 sec/55 % N/N_0 *)

Auf diese Weise wird die Schulter der Häufigkeitsverteilung der Schadstufe II (gegenüber Versuch 3.3) vergrößert. Der exponentielle Abfall beginnt zwischen UV = 90 und UV = 100 sec, während er ohne Photoreaktivierung seinen Anfang zwischen UV = 70 und UV = 80 sec nimmt. Ebenso entsteht die größere Schulter nach Photoreaktivierung für die Schadstufe I. So ergeben sich nach maximaler Photoreaktivierung für die drei Schulterkurven der Schadstufen 0, I und II (Abb. 20) folgende charakteristischen Werte:

Tabelle 4*)

max.PR mit	Versuch	Schad- stufe	n (Extra- polations- zahl)	D_0 (erg/mm ²)	D_{37} (erg/mm ²)
10 min	3.4	0	**) [700]	**) [70]	**) [470]
	3.9	0	40	110	490
20 min	3.9	I	12 [12]	270 [220]	940 [720]
20 min	3.9	II	300 [8,5]	270 [470]	1800 [1440]

*) in eckiger Klammer sind die Werte ohne Photoreaktivierung angegeben.

**) ohne Angaben, da im linearen Bereich nur eine Stichprobe mit Werten größer als 0. Darunter sind die Werte für PR = 20 min angegeben.

Der Vergleich der Schulterkurven photoreaktivierter (Vers. 3.4 bzw. 3.9) und nicht photoreaktivierter (Vers. 3.3) Oocysten für die jeweiligen Schadstufen in den Abbildungen 21 - 23 ergab folgende Dosis-Reduktions-Faktoren:

Tabelle 5

S c h a d s t u f e n				
0		I	II	
DRF	% N/N ₀	konstanter DRF = 0,76	DRF	% N/N ₀
0,8	7		0,3	90
*)			0,5	80
			0,7	50
			0,87	20
		1,0	7	

*) Der DRF wurde nur für $N/N_0 = 7\%$ angegeben, da dies die einzige Stichprobe von Vers. 3.4 mit einem Wert größer als 0 im linearen Bereich der Schadstufe 0 war. Möglicherweise ist der DRF für die Schadstufe 0 konstant.

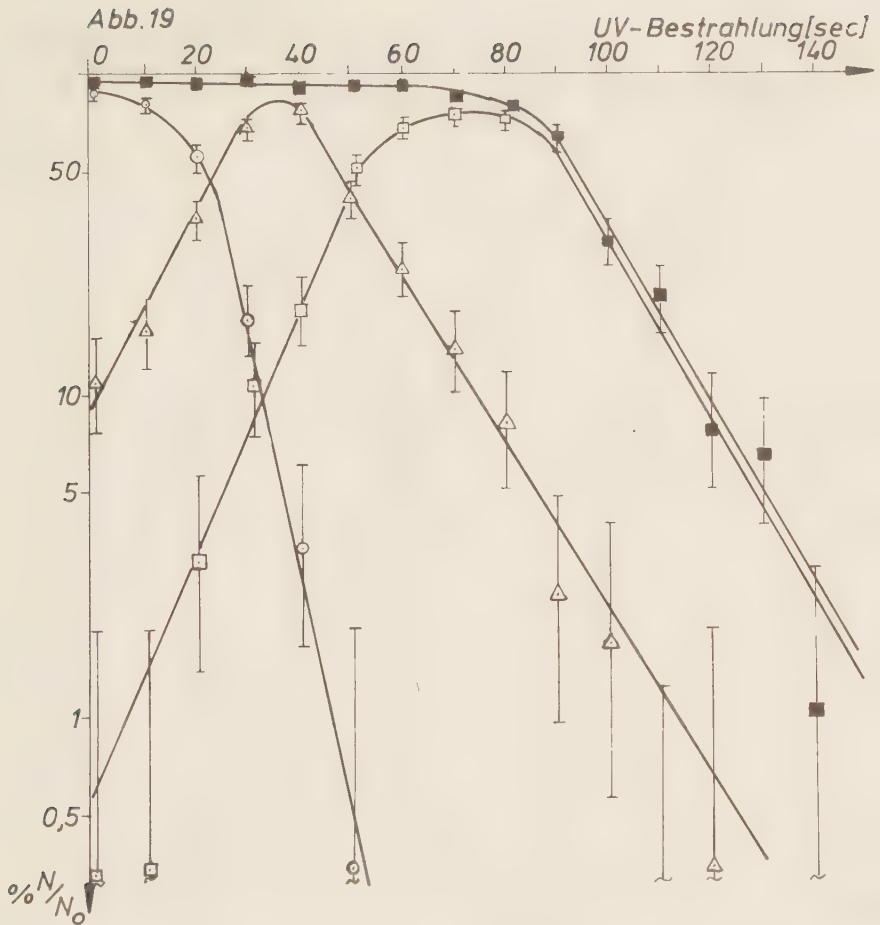


Abb. 19. Die Häufigkeitsverteilungen nach UV-Bestrahlung und 20-minütiger Photoreaktivierung für die Kategorien der Schädigung (Versuch 3.9 UV + PR 20 min). $\odot$: Kategorie 0 (Sporozysten); $\triangle$: Kategorie 1 (Verteilung ohne Differenzierung oder degenerierte Sporozysten); $\square$: Kategorie 2 (atypische Teilungen); $\blacksquare$: Schadstufe II (Teilung überhaupt). Die Größe der Schulter der Schadstufe II wird in der Hauptsache durch die Kategorie 2 bestimmt.

Abb.20

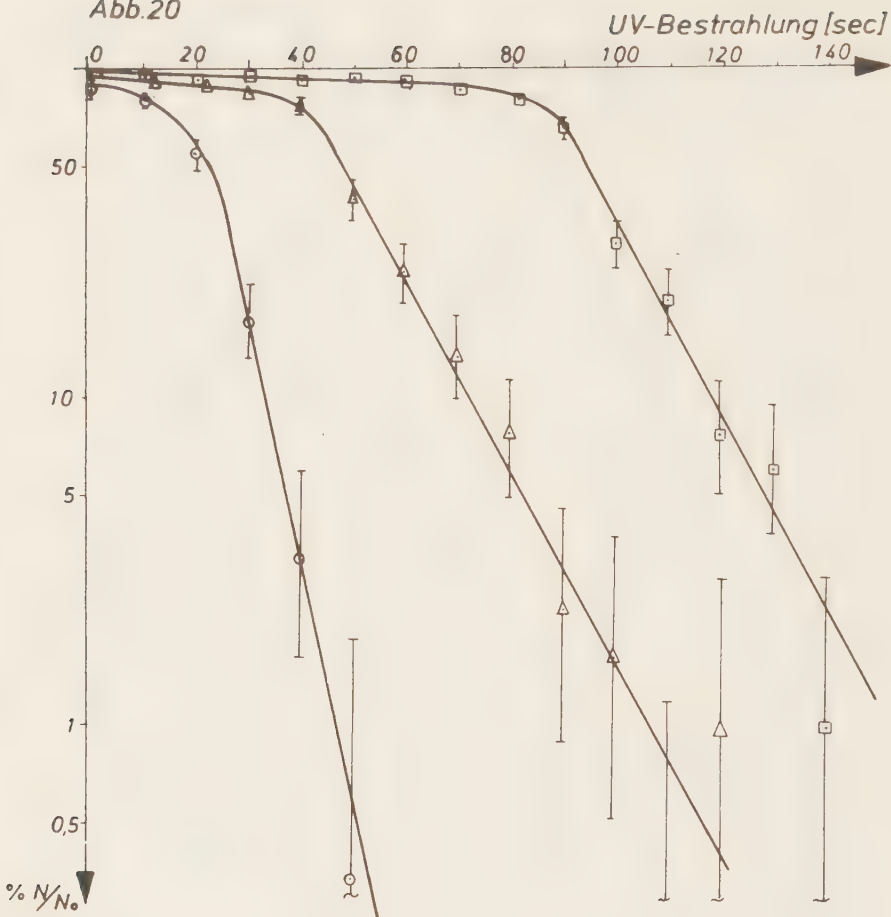
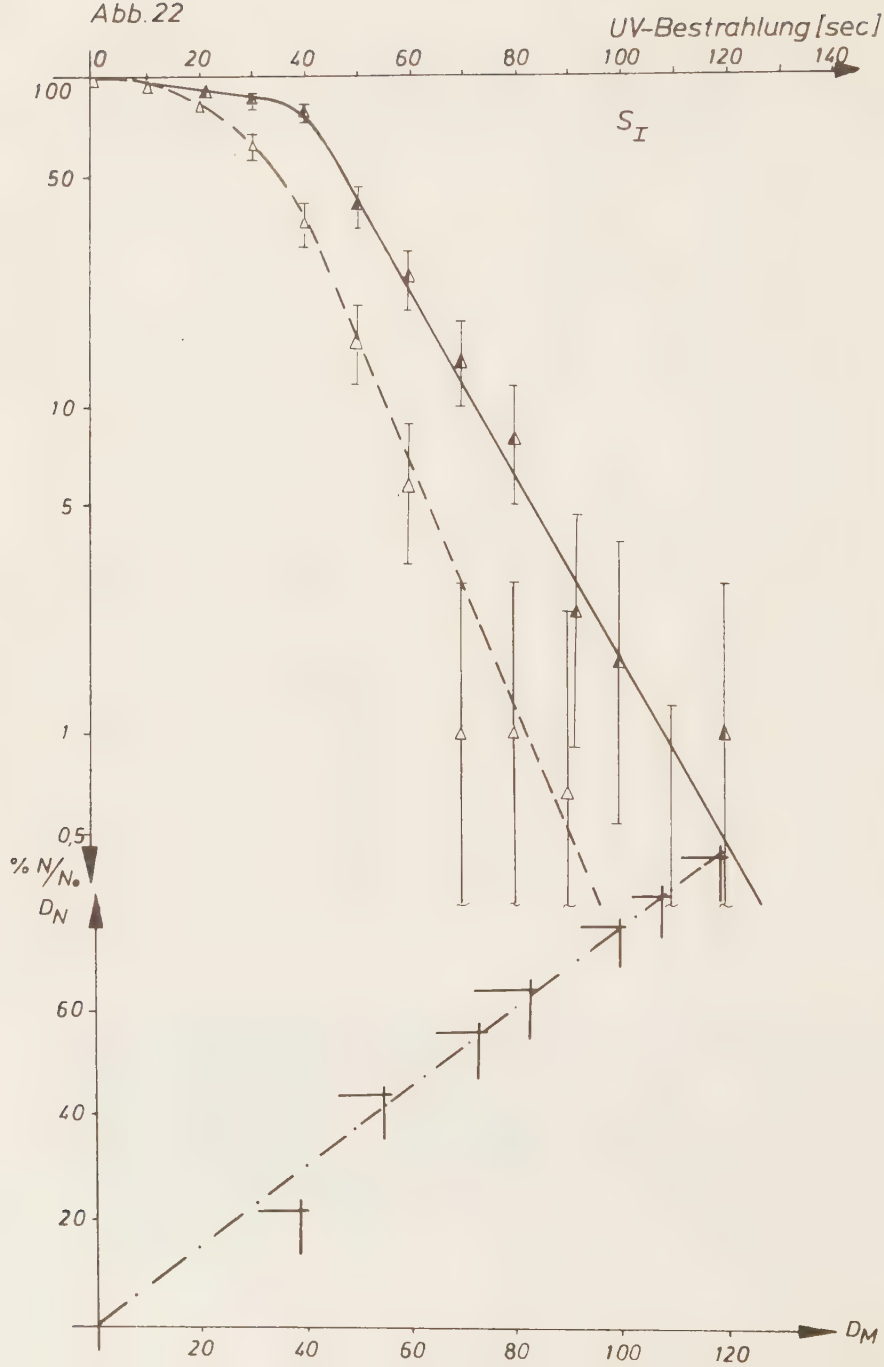
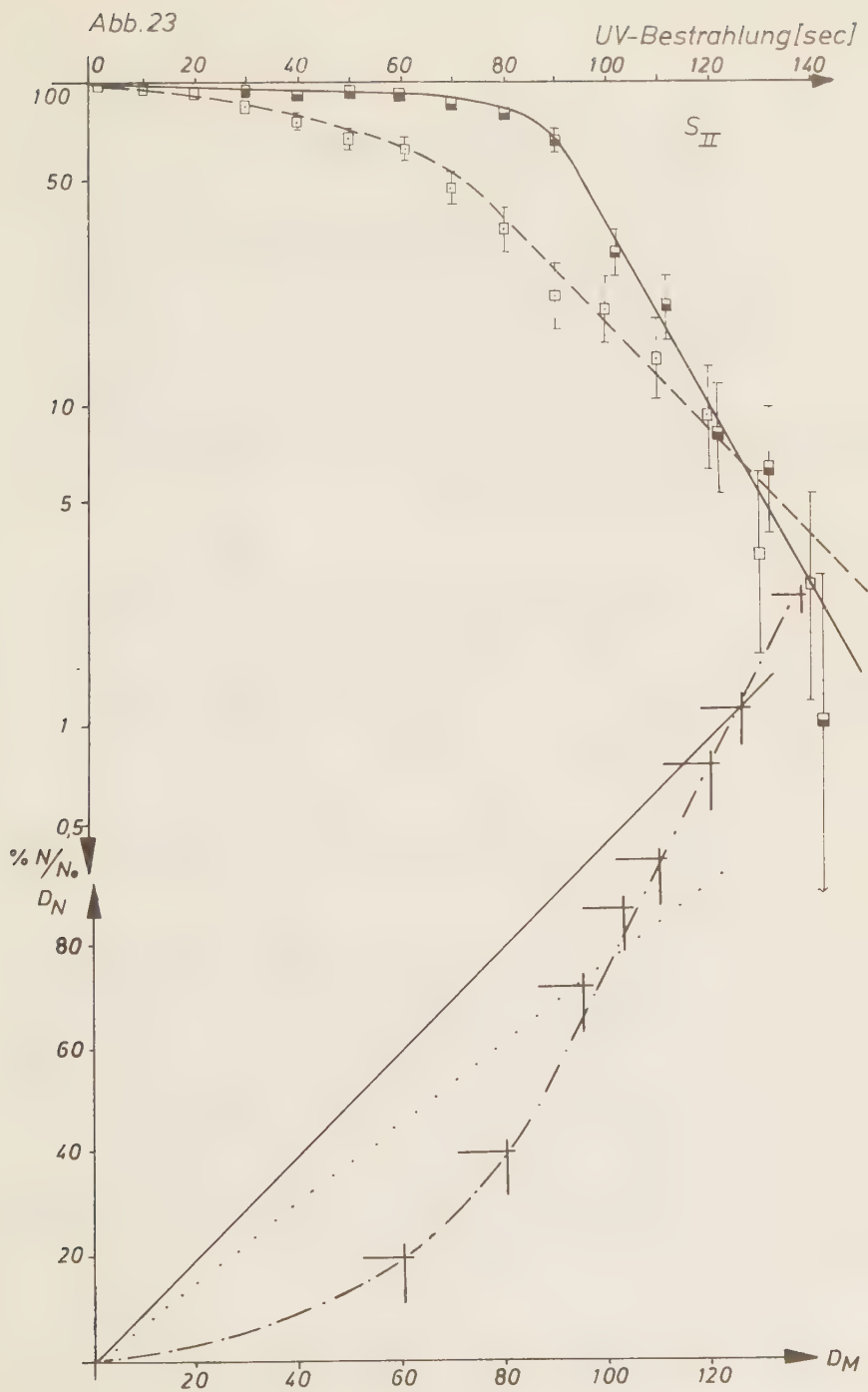


Abb. 20. Die Schulterkurven für die Schadstufen nach UV-Bestrahlung und 20-minütiger Photoreaktivierung (Versuch 3.9 UV + PR 20 min). $\circ$: Schadstufe 0 (Sporozoitien); $\triangle$: Schadstufe I (alle mit Vierteilung); $\square$: Schadstufe II (alle mit Teilung überhaupt). Der exponentielle Abfall der Schadstufe I und II verläuft parallel, d.h. gleiche mittlere letale Dosis D_0 für beide Kurven.

Abb. 22





5. ABHÄNGIGKEIT DER EMPFINDLICHKEIT VOM ALTER

In der vorliegenden Untersuchung kamen Oocysten zur Bestrahlung, die zuvor in unsporuliertem Zustand verschieden lang bei 4°C aufbewahrt wurden (Versuchsummer und Dauer der Aufbewahrung bei 4°C siehe Abb. 24, Auswertung am 6. Tage nach der Bestrahlung). Die Kontrollen (UV = 0) zeigen, daß für 8 Monate alte Oocysten das Sporulationsergebnis schlechter ausfällt gegenüber Oocysten, die weniger als 3 Wochen bei 4°C aufbewahrt wurden. Bezüglich ihrer Empfindlichkeit gegenüber UV-Bestrahlung (UV = 40 und UV = 80) konnten die Oocysten in drei Gruppen (Tab. 6) eingeteilt werden.

Tabelle 6

Gruppe	Dauer der Aufbewahrung bei 4°C (Alter)	Empfindlichkeit
A	5 Stunden	geringer als B
B	1 Tag bis 17 Tage	Bezugsbasis
C	8 Monate	geringer als B

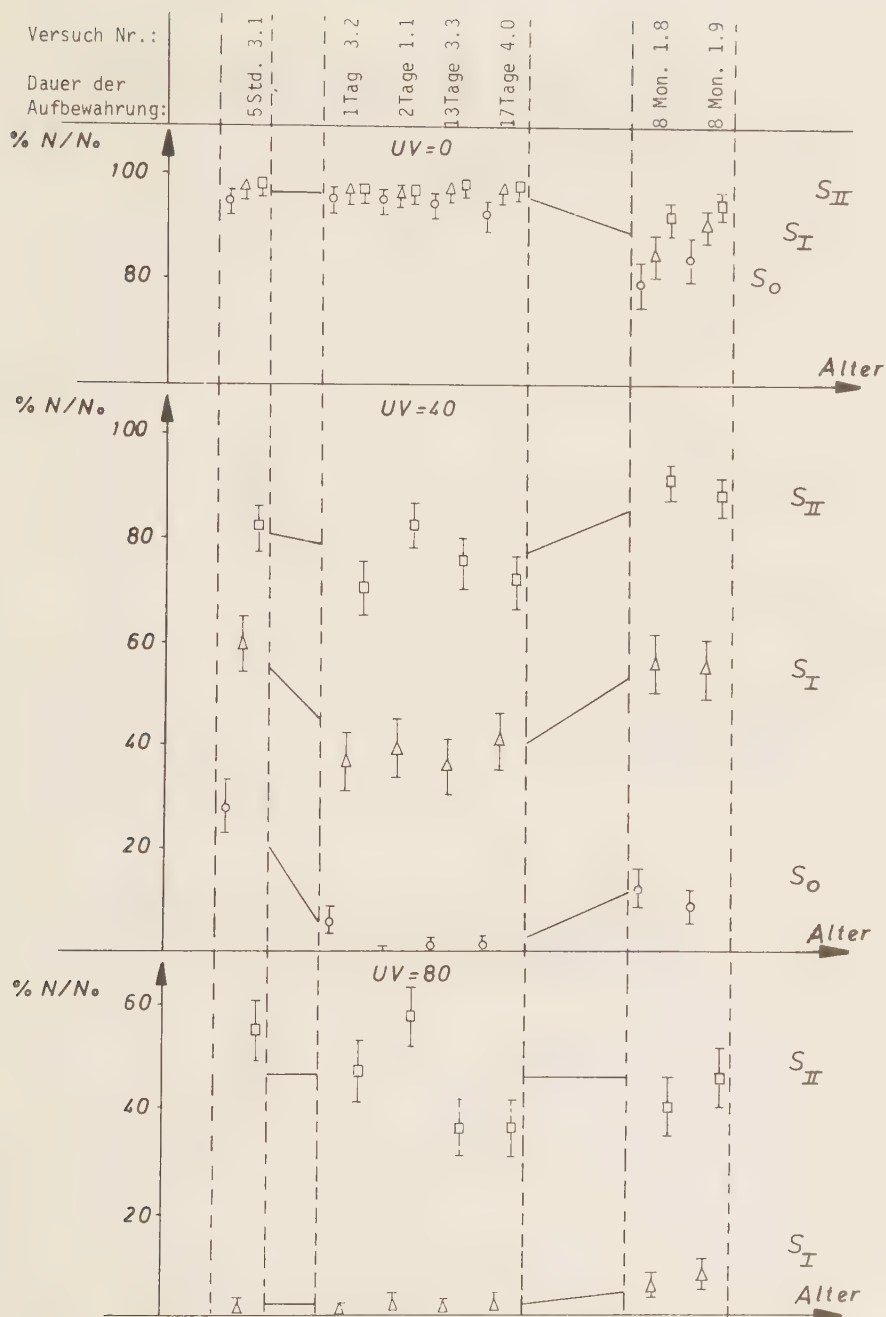
Die Abbildungen 25 und 26 vergleichen anhand der Schulterkurven die UV-Empfindlichkeit der Gruppe C mit der Gruppe B für die Schadstufen I und II:

Nach einer Aufbewahrungsdauer von 8 Monaten (Gruppe C) zeigen die Oocysten eine geringere Empfindlichkeit gegenüber der UV-Bestrahlung (Bezugsbasis Gruppe B).

Diese Empfindlichkeitsabnahme der 8 Monate alten Oocysten zeigt jedoch nicht die gleiche Effektivität wie eine 20-minütige Photoreaktivierung von frischen Oocysten (Gruppe B).

Durch eine 15-minütige Photoreaktivierung 8 Monate alter Oocysten wurde für die Schadstufe I kein und für die Schadstufe II ein nur geringer Effekt erzielt.

Abb. 24



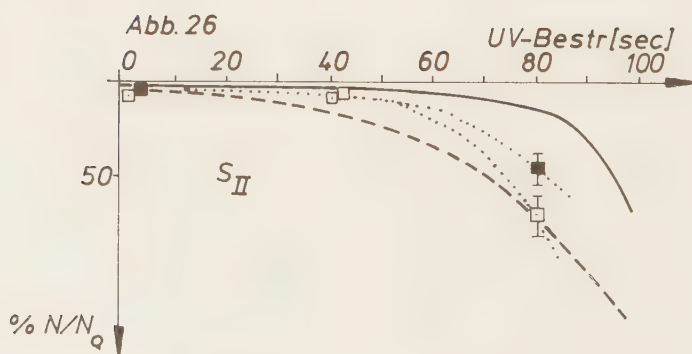
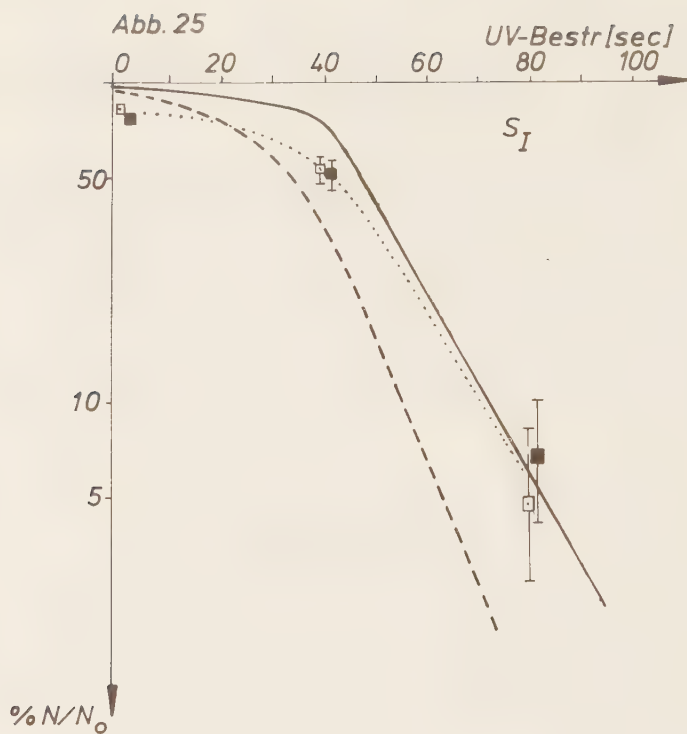


Abb. 24. Die Abhängigkeit der UV-Empfindlichkeit vom Alter, d.h. der Dauer der Aufbewahrung bei 4°C vor der Strahlenexposition (Kap. II/3). Es bedeuten: ○ = Schadstufe 0, △ = Schadstufe I, □ = Schadstufe II. Eine verringerte UV-Empfindlichkeit der Coccidien-Oocysten zeigen die Gruppe A und C gegenüber der Gruppe B bei UV = 40 sec (72 erg/cm²). Die Häufigkeiten der Schadstufen 0 und I der Gruppen C für UV = 0 liegen niedriger als die entsprechenden Häufigkeiten der Gruppe A und B, d.h. bei der Gruppe C treten auch ohne UV-Bestrahlung vermehrt pathologische Teilungen und Degenerationserscheinungen auf.

Abbn. 25 und 26. Schulterkurven der Schadstufe I und II für unterschiedliches Alter (Versuche 1.8, 1.8 + PR 15 min, 3.3 und 3.9).
.....□.....: Alter 8 Monate, UV alleine;■.....: Alter 8 Monate, UV + PR 15 min; ————: Alter 13 Tage, UV alleine; ————: Alter 16 Tage, UV + PR 20 min. Die UV-Empfindlichkeit 8 Monate alter Oocysten (Gruppe C) ist geringer im Vergleich zur Empfindlichkeit frischer Oocysten (Gruppe B), aber größer im Vergleich zur Empfindlichkeit frischer und maximal photo-reaktiver Oocysten. Nach 15-minütiger Photoreaktivierung 8 Monate alter Oocysten wurde nur für die Schadstufe II (Abb. 26) und UV = 80 sec ein signifikanter Effekt gemessen.

6. SPORULATIONSKINETIK UNTER UV-EINWIRKUNG

Aus den Besonderheiten der Entwicklung der Coccidien, daß der ersten Kernteilung, einer Meiose, sogleich eine Mitose folgt, wobei aus einem Sporonten unmittelbar vier Sporoblasten entstehen, und daß zwei deutlich unterscheidbare exogene Generationen vorhanden sind, ergab sich, daß für die Darstellung der Teilungsverzögerung ein besonderes Verfahren entwickelt werden mußte (siehe Kap. II/5). Auch die Kriterien der Schadwirkung wurden im Hinblick auf die Kernteilungsvorgänge bei Coccidien geändert (siehe Tabelle 7). Dabei mußte berücksichtigt werden, daß ein Zeitabstand von 24 Stunden zwischen den Auszählungen es nicht erlaubte, ein Kanten- und Buckelstadium zu registrieren, sowie das erste und zweite Pyramidenstadium als auch das Stadium der 1. und 2. Abrundung sicher zu unterscheiden.

Tabelle 7

Plasmateilung bzw. Generation	K r i t e r i u m	Einreihung der morph. Typen	Kategorie
erste	Sporoblastenstadien (S. 16, Abb. 1, Stadium 2 - 14)	b	1_K
zweite	Differenzierung der Sporoblasten ohne und mit leichter Degeneration (S. 16, Abb. 1, Stadium 15 und S. 23, Abb. 2, B - F)	c, d	0_K
Letal- schädigung	Atypische Teilung sowie starke Degeneration der Sporozoiten (S. 24, Abb. 3, A - F und S. 23, Abb. 2, A)	e, f, d ⁺	2_K

Die Bezeichnung der Kategorien 0_K , 1_K und 2_K orientierte sich an der bisherigen Klassifizierung der morphologischen Typen, da nur der Typ d (siehe S. 21) eine unterschiedliche Einreihung erfahren hatte und die Kategorie 3 ebenso wie die Schadstufe II unverändert blieb.

Das maximale Sporulationsergebnis für $UV = 0$ ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (Zusammenfassung bei DÜRR et al, 1971) nach 72 Stunden erreicht worden.

Die aus Versuch 1.1 erhaltenen Kurven $H_1(t)$ (Abb. 27) zeigen die mit der Dosis zunehmende Verzögerung der 1. Plasmateilung. Die Kontrolle hat das Maximum der 1. Plasmateilung am 1. Tag bereits überschritten, während für $UV = 40$ sec etwa nach $1 \frac{1}{2}$ Tagen und für $UV = 60$ sec etwa nach 2 Tagen das Maximum der ersten Plasmateilung erreicht wird.

Folgende Verzögerungen für die 50%-Werte (S. 29) der ersten Plasmateilung lassen sich aus den Kurven ablesen:

$UV = 20$ sec: wenige Stunden

$UV = 40$ sec: etwa $\frac{1}{2}$ Tag

$UV = 60$ sec: 1 Tag

Als Verzögerung der 50%-Werte der zweiten Plasmateilung (Abb. 28) wurden folgende Zeiten gefunden:

$UV = 20$ sec: wenige Stunden

$UV = 40$ sec: 3 Tage

Das Sporulationsergebnis für $UV = 60$ sec umfaßte lediglich degenerierte Sporozoitien (zuvor in Kategorie 1, vergl. S. 26, Tab. 1 und S. 57, Tab. 7). Deswegen wurde eine Sporulationsverzögerung für $UV = 60$ sec nicht angegeben.

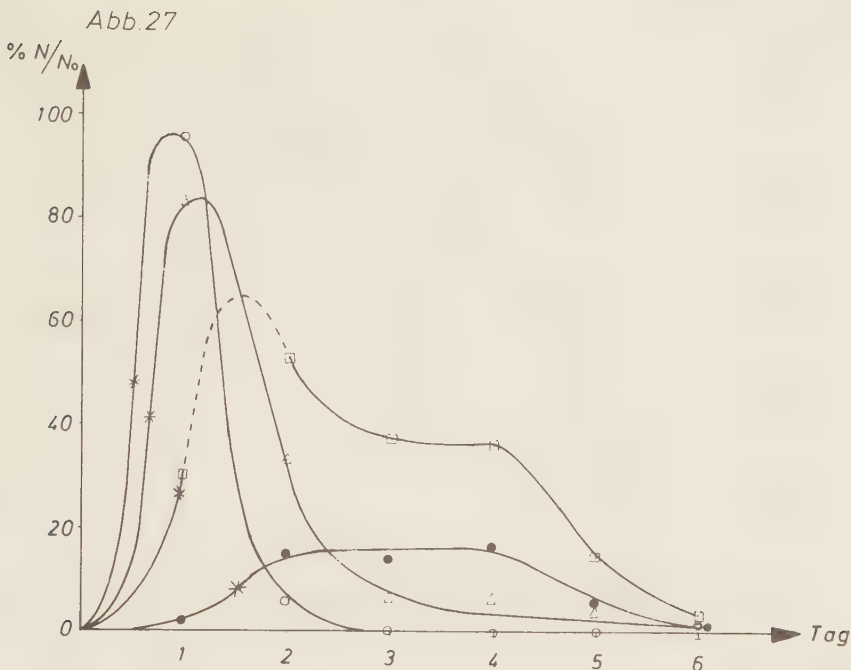
Aufschlußreich ist auch das Diagramm $H_2(t)$ (Abb. 29), welches den Anstieg atypischer Teilungen aufzeichnet. Auffallend ist der jeweils gleichartige Verlauf der Kurven $H_2(t)$ für $UV = 60$ und $UV = 80$ sec sowie für $UV = 40$ und $UV = 100$ sec im gesamten Bereich. Eine starke Verzögerung

in der Entstehung von atypischen Teilungen ist für die Dosis $UV = 120 \text{ sec}$ und $UV = 140 \text{ sec}$ zu verzeichnen. Gegenüber allen anderen Kurven haben die Kurven $H_2(t)$ für $UV = 60$ und $UV = 80 \text{ sec}$ den stärksten Anstieg. Die Kurven $H_2(t)$ für $UV = 20$ und $UV = 140 \text{ sec}$ verlaufen ab dem 4. Tag ebenfalls gleichartig.

Bemerkenswert ist, daß atypische Teilungen in keinem Fall bereits während der ersten 24 Stunden entstanden sind (Abb. 29). Der Anstieg der Kurve für atypische Teilungen verläuft also nicht mit dem Anstieg der Kurve für die erste Zellteilung (Abb. 27), sondern mit dem für die zweite Zellteilung (Abb. 28) synchron.

Die Abbildungen 30 - 32 sollen veranschaulichen, wie die Häufigkeitskurven der Kategorien 0 bis 2 sowie der Schadstufe II in ihren wichtigsten Phasen im Laufe der Zeit entstehen.

Oocysten, die vor dem Ansetzen zur Sporulation für eine Dauer von 8 Monaten bei 4°C aufbewahrt wurden (Vers. 1.8 und 1.9), sowie Oocysten, die nur 5 Stunden alt waren (Vers. 3.1), erreichten ihr Sporulationsoptimum nicht am 2. Tag, sondern erst etwa am 4. Tag.



Abbn. 27 - 29. Darstellung der Teilungsverzögerung für die erste ($h_1(t)$) und zweite ($h_2(t)$) Plasmateilung sowie für Letalschädigung ($H_2(t)$), (Versuch 1.1). Die Teilungsverzögerung für die einzelnen UV-Dosen entspricht der zeitlichen Differenz zwischen den 50-%-Werten für die jeweilige UV-Dosis und den 50-%-Werten für UV = 0. Die 50-%-Werte sind gekennzeichnet durch: *. Atypische Teilungen bei UV-Dosen von UV = 20 sec bis UV = 100 sec erreichen ihr Optimum am 3. Tag, bei höheren UV-Dosen erst 12 bis 24 Stunden später. Bei mittleren UV-Dosen (UV = 40 sec bis UV = 100 sec) ist über den dritten Tag hinaus ein geringer Anstieg der Häufigkeiten von pathologischen Teilungen zu verzeichnen. Die Verteilungen für UV = 60 sec und UV = 80 sec haben denselben Kurvenverlauf, ebenso die Verteilungen für UV = 40 sec und UV = 100 sec.

Abb.28

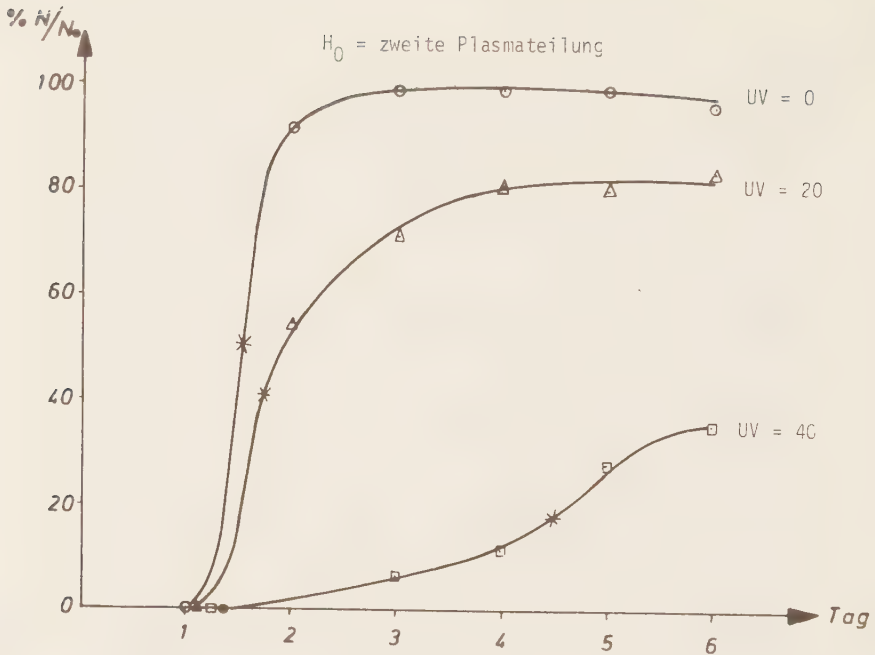
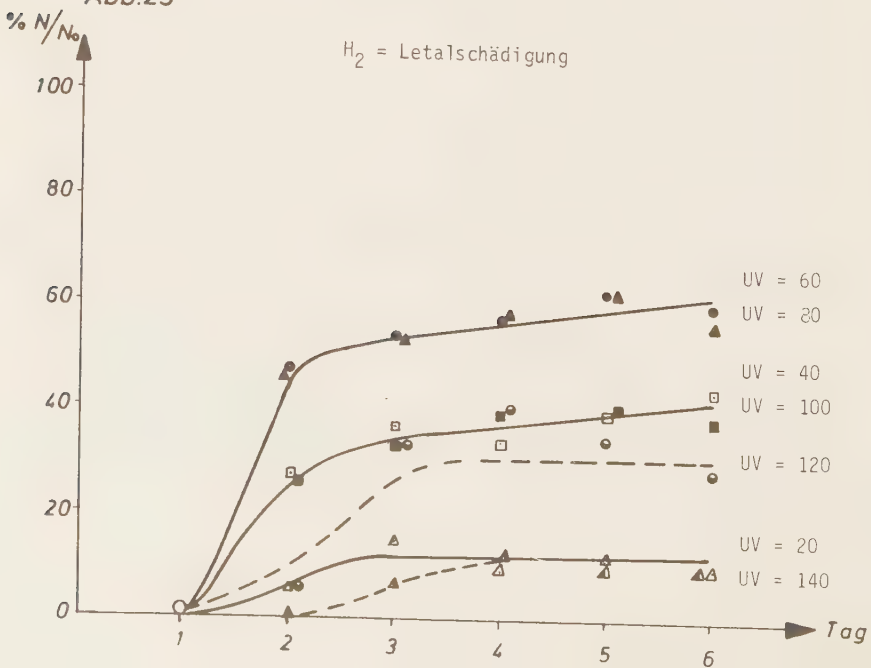
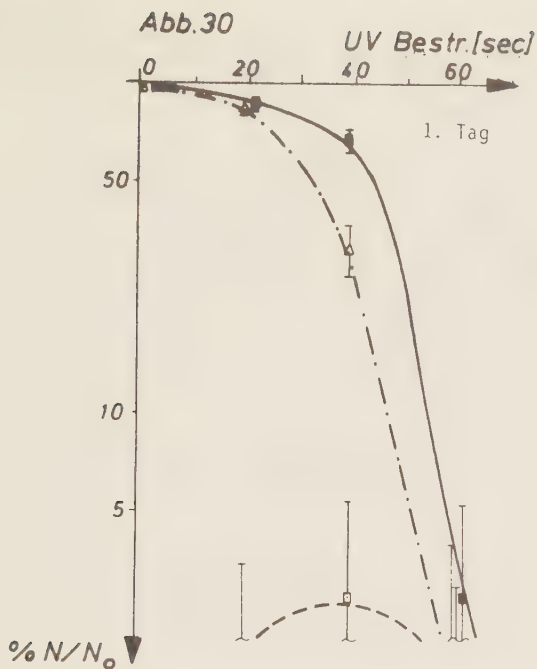


Abb.29





Abbn. 30 - 32. Die Wirkung der UV-Bestrahlung auf die Entwicklungsphasen (Versuch 1.1, erster, zweiter und sechster Tag).

○.....: Kategorie 0, Differenzierung der Sporblasten ohne und mit leichter Degeneration; ---△---: Kategorie 1, Sporblastenstadien; ---□---: Kategorie 2, atypische Teilung sowie starke Degeneration der Sporozoiten; —■—: Schadstufe II, Teilung überhaupt.

Abb.31

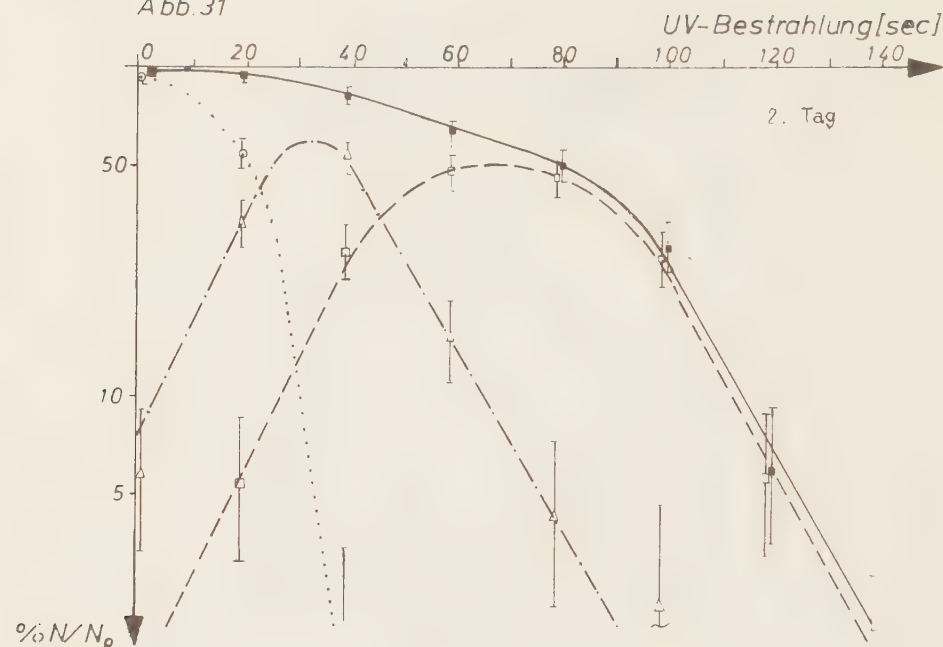
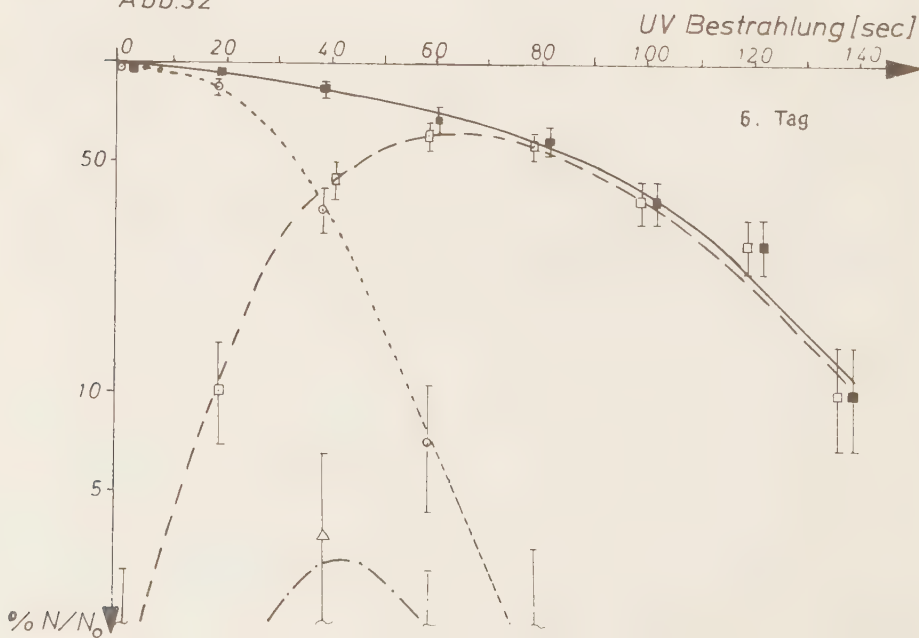


Abb.32



IV. DISKUSSION

Die Besonderheiten der Entwicklung der Eimerien, verbunden mit deutlichen morphologischen Differenzierungsvorgängen, sowie die Erscheinung, daß diese Organismen nach UV-Bestrahlung leicht unterscheidbare pathologische Teilungsformen bilden, prädestinieren dieses Untersuchungsobjekt dazu "Teilungskurven" aufgrund einer multiplen Stochastik aufzustellen. Inwieweit und welche dieser Teilungskurven Überlebens- bzw. Koloniebildungskurven entsprechen, oder ob sie das überhaupt tun, ist ein überaus interessanter Aspekt, jedoch wäre es aufgrund der vorliegenden Arbeit zu hypothetisch, diesbezüglich Schlüsse zu ziehen, wenn auch eine Übertragbarkeit der Kriterien des Schadstufenschemas (Kap. II/4) auf andere biologische Objekte ins Auge gefaßt wurde.

So ist z.B. anzunehmen, daß UV-bestrahlte aber normal entwickelte Oocysten der Schadstufe 0 nicht alle zur Infektion einer Wirtszelle und damit zur weiteren Teilung fähig sind. Infektionsversuche und Versuche mit Zellkulturen (KLIMES et al, 1972) müssen das Bild vervollständigen.

Für Röntgenbestrahlung hat SCUPIN (1971) für steigende Bestrahlungsdosen gezeigt, daß normal entwickelte Oocysten folgendes Verhalten zeigen:

Infektion möglich und vollständiger endogener Entwicklungszyklus;
Infektion möglich, aber begrenzter endogener Entwicklungszyklus;
Infektion nicht möglich;
Excystation vermindert.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die absolute Dosis der UV-Strahlen [erg/cm^2] für charakteristische Werte der Inaktivierungskurven von Eimeria stiedai bestimmt. Ein Vergleich mit anderen Autoren ist nicht möglich, da diese entweder keine UV-Dosen angaben (LITWER, 1935 a, b und 1938 a, b) oder eine Strahlenquelle mit unbekanntem Spektrum benutzten (FISH, 1932).

Als Kriterium für die Inaktivierung, d.h. die Hemmung der morphologischen Entwicklung, wurde die Fähigkeit des Sporonten sich zu teilen und sich morphologisch zu differenzieren benutzt.

Das allgemeinste Kriterium, nämlich die beliebige Teilung des Sporonten, bezeichnet als Schadstufe II, wurde in verschiedene Schädigungskategorien gegliedert. Die Häufigkeiten der Schädigungskategorien mit einer Kennziffer größer als Null, also der Sporonten, die sich zwar teilten, aber dennoch mehr oder weniger sichtbar geschädigt waren, ergaben im halblogarithmischen Koordinatensystem symmetrisch paraboloiden Verteilungskurven mit konstanten und für die Versuchsanordnung charakteristischen Maxima.

Diese paraboloiden Verteilungen entstehen dadurch, daß mit zunehmender Dosis ein bestimmter pathologischer Typ zunimmt, um schließlich ebenso abzunehmen zugunsten von Typen stärkerer Schädigung. So konnten starke Abweichungen von einer symmetrischen Kurvenform in den Vorversuchen als Fehler in der morphologischen Klassifizierung gedeutet und ausgewertet werden (siehe auch Abb. 8, S. 37).

Die Häufigkeiten der Schädigungskategorie 0 (= Schadstufe 0), d.h. der Sporonten, die ohne sichtbare Schädigung Sporozoiten entwickelten, ergaben eine Schulterkurve. Die Verteilungen der Schadstufen I und II, als fortlaufende Summierung der Kategorien, entsprachen ebenfalls Schulterkurven, wobei die Größe der Schulter in der Hauptsache durch die jeweils höchste zugelassene Kategorie der Schädigung bestimmt wurde.

Die Maxima der paraboloiden Verteilungen der Schädigungskategorien waren ebenso wie die kennzeichnenden Werte der Schulterkurven, die D_{37} , die D_0 und die Extrapolationszahl n , von den Versuchsbedingungen abhängig. Aufgrund der vorliegenden Untersuchungen war die Größe und Form der Schulter, d.h. die unterschiedliche Empfindlichkeit der Oocysten gegenüber UV-Bestrahlung, von der Einwirkung von sichtbarem Licht nach der UV-Bestrahlung (Kap. III/3 und III/4), von dem Alter der Oocysten (Kap. III/5) sowie von dem Zeitpunkt der Auszählung (Kap. III/6) abhängig.

Erstmals wurde die Photoreaktivierbarkeit für Eimerien nachgewiesen, d.h. die teilungshemmende Wirkung des UV-Lichtes auf die Coccidien-oocysten wurde durch eine Nachbehandlung mit langwelligem UV- und sichtbarem Licht ($\lambda > 300 \text{ nm}$) - hier als PR-Licht bezeichnet - abgeschwächt.

Wahrscheinlich wird die beschriebene photoreaktivierende Wirkung durch direkte photoenzymatische Reparatur (siehe S. 8) bewirkt. Nach einer Vorbehandlung der Oocysten mit demselben photoreaktivierenden Licht (Photoprotektion) konnte jedenfalls keine Milderung der Wirkung von UV-Strahlen beobachtet werden. Da bei der indirekten Photoreaktivierung ein mildernder Effekt sowohl durch Vorbehandlung wie auch durch Nachbehandlung mit sichtbarem Licht erzielt werden müßte, kann die Wirksamkeit der indirekten Photoreaktivierung ausgeschlossen werden.

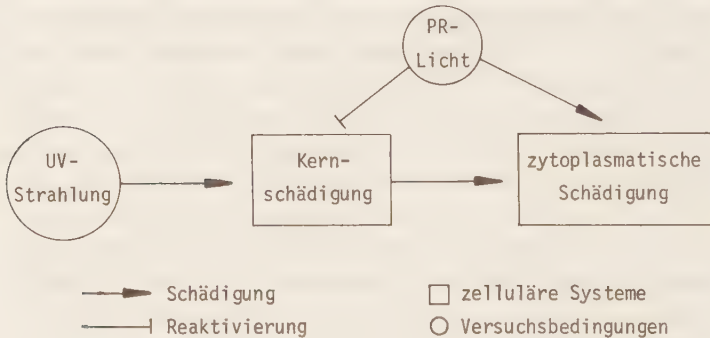
Bewiesen werden kann das Vorhandensein der direkten photoenzymatischen Reparatur nur durch den Nachweis des PRE (photoreactivating enzyme). Bei Protozoen ist lediglich die Monomerisierung von Pyrimidindimeren durch photoreaktivierendes Licht nachgewiesen worden, und zwar bei Paramecium durch SUTHERLAND, CARRIER und SETLOW (1967) und bei Tetrahymena durch FRANCIS und WHITSON (1969).

Darüberhinaus konnte an Coccidien gezeigt werden, daß das photoreaktivierende Licht auch einen schädigenden Einfluß ausübt. Mit zunehmender Bestrahlungsdauer verringerte sich die Häufigkeit des Ereignisses "normale Sporulation" bis zu einem Grenzwert, nach dessen Erreichen bei weiterer Erhöhung der Bestrahlungsdauer die Häufigkeit konstant blieb.

Dieser Befund deckt sich möglicherweise mit den Beobachtungen verschiedener Autoren (zusammengefaßt bei SCHNEIDER, AYENI und DÜRR, 1972), die eine schädigende Wirkung des Sonnenlichtes auf verschiedene Spezies der Gattung Eimeria beschrieben. Das Sonnenlicht umfaßt im wesentlichen denselben Wellenlängenbereich wie das hier verwendete photoreaktivierende Licht.

Der Einfluß der Bestrahlungsdauer des photoreaktivierenden Lichtes hat gegenüber dem Einfluß der UV-Dosis einen völlig verschiedenen Inaktivierungsverlauf zur Folge. Dies weist sehr deutlich auf einen gänzlich anderen Inaktivierungsmechanismus hin.

Dieser unterschiedliche Einfluß des photoreaktivierenden Lichtes und des UV-Lichtes wird durch die folgende schematisch dargestellte Hypothese gedeutet:



Die Versuchsbedingungen greifen an verschiedenen zellulären Systemen an, wobei der Angriffspunkt für die schädigende Wirkung des photoreaktivierenden Lichtes nicht unbedingt im Cytoplasma liegen muß, aber sicherlich verschieden ist von dem Angriffspunkt des UV-Lichtes.

Als Angriffspunkt für die schädigende Wirkung des PR-Lichtes wären insbesondere Enzymsysteme in Betracht zu ziehen. Es ist denkbar, daß Reparaturenzyme geschädigt werden, wie es TYRRELL und WEBB (1973) bei *E. coli* nachgewiesen haben. Die Beobachtung von PASTUSKO (1973), der feststellt, Wirtstiere ließen sich mit UV-bestrahlten Coccidien nicht immunisieren, läßt sich möglicherweise dadurch begründen, daß Enzyme, die für die Immigration des Parasiten in die Wirtszelle benötigt werden, durch langwelliges UV-Licht zerstört werden.

Zur Aufklärung des Angriffspunktes für das photoreaktivierende Licht könnte die Aufstellung von Wirkungsspektren für die verschiedenen Ereignisse wesentliches beitragen und könnte darüberhinaus eventuell Aufschlüsse über den zytochemischen Aufbau der Coccidien-Oocysten liefern.

Die Wirkung des photoreaktivierenden Lichtes für die einzelnen Schadstufen war unterschiedlich, was sich in einem verschiedenen Verlauf der Photoreaktivierungskurven (Abbn. 12 - 14, S. 41 u. 42) ausdrückte, sowie darin, daß für die Schadstufe I ein konstanter DRF gefunden wurde, während er für die Schadstufe II von der Häufigkeit des Ereignisses "Teilung überhaupt" abhängig war. Möglicherweise wirkt sich für die Schadstufen 0, I und II die Überlagerung der Inaktivierungsmechanismen jeweils verschieden aus (additiv oder potenzierend).

Eine unterschiedliche Empfindlichkeit verschieden alter Oocysten gegenüber UV-Strahlen wurde in Kap. III/5 dargestellt. Das Alter wurde dort als Dauer der Aufbewahrung bei 4°C in unsporuliertem Zustand vor der Strahlenexposition definiert (siehe auch Kap. I/4, Seite 12). Oocysten, die 5 Stunden (Gruppe A) und solche, die 8 Monate (Gruppe C) alt waren, zeigten am 6. Tage der Auszählung eine geringere UV-Empfindlichkeit gegenüber der Gruppe B (Alter 1 - 17 Tage). Die Oocysten mit einer geringeren UV-Empfindlichkeit benötigten eine längere Zeit, das Sporulationsoptimum zu erreichen (Kap. III/6), die Sporulationsdauer war also in diesen Fällen verlangsamt. Weitere Versuche müssen klären, ob das Alter die bei der Sporulationsverlangsamung vermutete Rolle spielt. Es wird angenommen, daß die betreffenden Oocysten aufgrund der Sporulationsverlangsamung mehr Zeit hatten, durch sogenannte Dunkelreparatur Schäden zu eliminieren.

Der gleiche Mechanismus lag vermutlich bei dem von LITWER (1938 a, b) beschriebenen Reparaturvermögen von E. magna vor, der umso größere Effektivität zeigte, je länger die Sporulationsverzögerung durch tiefe Temperatur oder durch anaerobe Bedingungen war (s. Kap. I/4).

Dies weist eindrücklich darauf hin, daß es ebenso wichtig ist, die Sporulationsdauer der Kontrolle festzuhalten, wie es wichtig ist, Bestrahlungsversuche mit UV-Licht unter definierten Lichtverhältnissen durchzuführen, da in beiden Fällen Reparatursysteme einen wesentlichen Einfluß auf die Versuchsergebnisse nehmen können.

Die geringere Effektivität der Photoreaktivierung für alte Oocysten könnte ihren Grund darin haben, daß die Aktivität des PRE mit zunehmender Lagerungsdauer abnimmt.

Andere Untersuchungen, die sich mit der Abhängigkeit der Empfindlichkeit vom Alter befassen, verwenden entweder eine andere Definition des Alters (SMITH-SONNEBORN, 1971) oder es liegen andere Versuchsbedingungen und Kriterien vor (DÖRR und REISER, 1972). Letztere Autoren fanden eine Zunahme der Empfindlichkeit mit dem Alter gegenüber Röntgenbestrahlung. Verglichen wurden Oocysten mit einem Alter von drei Wochen bis zu drei Monaten. Das Kriterium der Empfindlichkeit war der Prozentsatz vollsporulierter Oocysten (das entspricht der Schadstufe 0). Die Empfindlichkeitszunahme wurde festgestellt, wenn die Auszählung am 30. Tage nach der Bestrahlung erfolgte und die Oocysten älter als sechs Wochen waren. Am 6. Tag nach der Bestrahlung war die Empfindlichkeit der Oocysten nicht oder nur wenig verschieden.

Demgegenüber steht in der vorliegenden Untersuchung eine Empfindlichkeitsabnahme bei acht Monate alten Oocysten für die Schadstufe I und II am 6. Tage ausgezählt. Ein Vergleich der Ergebnisse beider Untersuchungen ist infolge der unterschiedlichen Versuchsbedingungen und Auswertungskriterien nicht möglich.

In vielen Untersuchungen wird eine Verzögerung der Zellteilung bei Protozoen durch Strahlenbelastung beschrieben (s. Kap. I/2). So ist es einleuchtend, daß der Zeitpunkt, zu dem der Strahlenschaden festgestellt wird, eine wichtige Rolle spielt. Aufgrund der in Kap. III/6 dargestellten Ergebnisse konnte keinesfalls die normale Sporulationsdauer von 72 Stunden als Bezugsbasis für den UV-Strahleneffekt gewählt werden. Es wurde deshalb der sich am 6. Tage nach der Bestrahlung einstellende stationäre Zustand herangezogen.

DÖRR und REISER (1972) zeigten, daß über diesen Zeitpunkt hinaus Degenerationserscheinungen bei voll sporulierten Oocysten ab dem 12. Tage nach der Bestrahlung das Versuchsergebnis modifizieren können. Für UV-Bestrahlung konnte diese Beobachtung nicht überprüft werden. Es wird jedoch als wahrscheinlich angenommen, daß ebensolche Degenerationserscheinungen auch nach UV-Bestrahlung eine Rolle spielen.

Eine Immunisierung von Wirtstieren mit bestrahlten Coccidien ist von ABU ALI, BINNERTS und KLIMES (1972), ALBANESE und SMETANA (1937), BALDELLI et al (1966), FITZGERALD (1967a, b und 1968), KLIMES, TANIELIAN und ABU ALI (1972), SCUPIN (1971) und WAXLER (1941) beschrieben worden. Sie verwendeten ausschließlich ionisierende Strahlen. PASTUSZKO (1973) bemerkt, daß eine Immunisierung mit UV-bestrahlten Coccidien nicht möglich sei. Die Art der Strahlenquellen und somit die verwendeten Wellenlängen sind jedoch nicht angegeben. Eine Untersuchung von MENEZES (1970) mit UV-bestrahlten Trypanosomen führt zu demselben Ergebnis. Als Strahlenquelle wurde hier eine Schwarzlichtlampe mit langwelligem UV-Licht verwendet, deren Emissionsspektrum im wesentlichen dem des photoreaktivierenden Lichtes entspricht. So scheint es nicht ausgeschlossen, daß kurzwelliges UV-Licht zur Immunisierung verwendet werden könnte.

Weitere Untersuchungen über Vaccine aus Röntgen- und Gamma-alterierten Parasiten wurden von der INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (1968 und 1970) veröffentlicht.

Eine interessante Anwendung für die Erstellung von multiplen Dosiswirkungskurven ergäbe sich, falls die von SCUPIN (1971) dargelegten Schädigungskategorien dasselbe Dosiswirkungsverhalten zeigten, wie die in dieser Untersuchung dargestellten morphologischen Schädigungskategorien. So könnte die optimale Bestrahlungsdosis bestimmt werden, die den maximalen Ertrag der gewünschten Sporozoiten liefert. Durch Modifikation der Versuchsbedingungen, wie z.B. Photoreaktivierung oder Dunkelreparatur, könnte schließlich deren Ausbeute noch vergrößert werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde die Wirkung von UV-Licht mit einem Emissionsmaximum (86 %) bei der Wellenlänge $\lambda = 234$ nm auf die Sporulation der Oocysten von Eimeria stiedai anhand morphologischer Kriterien bestimmt, sowie der Einfluß von photoreaktivierendem Licht (PR-Licht), wirksames Emissionsspektrum zwischen $\lambda = 300$ und 400 nm, der Einfluß des Alters und der Sporulationskinetik auf den UV-Strahleneffekt untersucht.
2. Für verschiedene Grade der Schädigung der Sporulation nach UV-Bestrahlung wurden die Dosis-Wirkungs-Beziehungen dargestellt und charakteristische Werte der erhaltenen Schulterkurven (D_{37} , D_0 und die Extrapolationszahl n) in erg/cm^2 angegeben. Es konnte gezeigt werden, daß Schulterkurven als Suppositionskurven einer Schulterkurve und symmetrisch paraboloider Verteilungen entstehen können.
3. PR-Licht alleine hat eine schädigende Wirkung auf die Sporulation. Diese schädigende Wirkung kann durch Erhöhung der Bestrahlungsdauer nicht beliebig verstärkt werden, sie erreicht einen Sättigungswert. Möglicherweise ist der Angriffspunkt für diese Wirkung des PR-Lichtes in der Inaktivierung verschiedener Enzymsysteme zu finden.
4. Eine photoreaktivierende Wirkung auf UV-bestrahlte Oocysten ist für kurze Einwirkungszeiten des PR-Lichtes nachgewiesen worden. Mit steigender Einwirkungszeit überwiegt jedoch der schädigende Einfluß des PR-Lichtes, so daß insgesamt kein oder ein schädigender Effekt erzielt wurde. Die Wirksamkeit der indirekten Photo-reaktivierung (Photoprotektion) wurde ausgeschlossen; es kann somit

vermutet werden, daß der Photoreaktivierungseffekt durch direkte photoenzymatische Reparatur bewirkt wurde.

5. Für maximale Photoreaktivierung nach UV-Bestrahlung wurden Schulterkurven und paraboloide Verteilungen dargestellt, und charakteristische Werte der Schulterkurven in erg/cm^2 angegeben. Es wurde außerdem der Dosis-Reduktions-Faktor für verschiedene Grade der Schädigung bei maximaler Photoreaktivierung bestimmt.
6. Bei verschiedenen Altersgruppen (=Dauer der Aufbewahrung bei 4°C) wurde eine unterschiedliche UV-Empfindlichkeit gefunden. Es wird vermutet, daß hierbei die Sporulationsdauer der Kontrolle ein wesentlicher Faktor ist, der die Empfindlichkeit über Reparatursysteme beeinflusst. Die Sporulationsdauer sollte also in jedem Fall, wo Reparaturreffekte eine Rolle spielen können, festgehalten werden.
7. Die Sporulationskinetik nach UV-Bestrahlung, d.h. die Entwicklung physiologischer und pathologischer Typen für den 1. - 6. Tage zeigt, daß erst am 6. Tag stationäre Verhältnisse sich einstellen. Dies scheint der günstigste Zeitpunkt für die Feststellung des Strahlenschadens zu sein. Es ist wahrscheinlich, daß über diesen Zeitpunkt hinaus Degenerationerscheinungen in zunehmendem Maße den Strahleneffekt bestimmen können.

VI. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ABU ALI, N., BINNERTS, W.T. und KLIMES, B. (1972): Immunization by irradiated Eimeria acervulina.
J. Protozool. 19, 177 - 180
- ALBANESE, A.A. und SMETANA, H. (1937): Studies on the effect of X-rays on the pathogenicity of Eimeria tenella.
Amer. J. Hyg. 26, 27 - 39
- BALDELLI, B., ASDRUBALI, C., BEGLIOMINI, A., FRESCURA, T. und MASSA, D. (1966): Studio degli effetti della radiazioni gamma sui Coccidi dei polli
Atti Soc. ital. Sc. Vet. 20, 701 - 716
- BESSIS, M. (1965): Micro-irradiation of cells: introductory lecture.
In: Recent Progress in Photobiology (ed: E. J. BOWEN), Oxford, S. 291 - 309
- BRANDT, C.L., SHEPARD, D.C. und GIESE, A.C. (1955): The effect of nutritional state on photoreversal of ultraviolet injuries in Didinium nasutum.
J. Gen. Physiol. 38, 295 - 305
- CALKINS, J. (1964): The lethal effects of radiation on six spezies of protozoans.
Photochem. Photobiol. 3, 143 - 151
- CANNING, E.U. und ANWAR, M. (1968): Studies on meiotic division in coccidial and malarial parasites.
J. Protozool. 15 (2), 290 - 298

- COOK, J.S. (1970): Photoreactivation in animal cells.
In: Photophysiology (ed: GIESE, A.C.), New York, London,
Vol. V, S. 191 - 233
- COUDERT, P., YVORE, P., PROVOT, F. (in Druck): Sporogonie d'Eimeria stiedai
- DOCUMENTA GEIGY (1960): Wissenschaftliche Tabellen (ed: J.R. GEIGY AG,
Pharmazeutische Abteilung), Basel, 6. Aufl.
- DOWNES, A. und BLUNT, T.P. (1877): Zitiert bei GIESE, A.C. (1953)
- DREYER, G. (1903 und 1904): Zitiert bei GIESE, A.C. (1969)
- DORR, U. (1972 a): Eimeria stiedai (Sporozoa), Exogene Phase.
In: Encyclopaedia Cinematographica (ed: G. Wolf), Göttingen
- DORR, U. (1972 b): Life cycle of Eimeria stiedai.
Acta Vet. Acad. Hung. 22 (1), 101 - 103
- DORR, U. und REISER, W. (1972): Zur Resistenz von Eimeria stiedai-
Oocysten gegen Röntgen- und Gamma-Bestrahlung.
Acta Vet. Acad. Hung. 22 (4), 409 - 416
- DORR, U., HEUNERT, H.H. und MILTHALER, B. (1971): Beobachtungen zur
Sporogonie von Eimeria stiedai (Protozoa, Sporozoa).
Acta Vet. Acad. Hung. 21 (4), 421 - 432
- DUCCOFF, H.S. (1963): The onset of ultraviolet-induced division blocks.
In: Progress in Protozoology (eds: LUDVIK, J., LOM, J., und
VAVRA, J.), New York, S. 226 - 229
- DULBECCO, R. (1955): Photoreactivation.
In: Radiation Biology II (ed: HOLLANDER, A.), New York,
S. 455 - 468

- ELKIND, M.M., SUTTON-GILBERT, H., MOSES, W.B., ALESCIO, T. und SWAIN, R.W. (1965): Radiation response of mammalian cells grown in culture.
Rad. Res. 25, 359 - 376
- FISH, F.F. (1932): Some factors in the control of coccidiosis of poultry.
J. Am. Vet. Med. Ass. 80, 543 - 559
- FITZGERALD, P.R. (1967 a): The effect of gamma radiation on the ability of Eimeria bovis to cause coccidiosis in calves.
J. Parasit. 53 (Suppl.), 5 - 6
- FITZGERALD, P.R. (1967 b): The effect of ionizing radiation on unsporulated oocysts of Eimeria stiedai.
J. Protozool. 14 (Suppl.), 21
- FITZGERALD, P.R. (1968): Effect of ionizing radiation from Co-60 on oocysts of Eimeria bovis.
J. Parasit. 54, 223 - 240
- FRANCIS, A.A. und WHITSON, G.L. (1969): UV-induced pyrimidinedimers in Tetrahymena pyriformis.
Biochim. Biophys. Acta 179, 253 - 257
- FRITZ-NIGGLI, H. und BLATTMANN, H. (1969): Verschiedene Mechanismen der Strahlen-Inaktivierung in Abhängigkeit von der Dosis und physiologischen Parametern.
Biophysik 6, 46 - 62
- GAULDEN, M.E. und PERRY, R.P. (1958): Influence of the nucleolus on mitosis as revealed by ultraviolet microbeam irradiation.
Nat. Acad. Sci. (US) Proc. 44, 553 - 559
- GIESE, A.C. (1953): Protozoa in photobiological research.
Physiol. Zool. 26, 1 - 22

- GIESE, A.C. (1964): Studies on ultraviolet radiation action upon animal cells.
In: Photophysiology (ed: GIESE, A.C.), New York, Vol. II, S. 203 - 245
- GIESE, A.C. (1967): Effects of radiation upon protozoa.
In: Research in Protozoology (ed: CHEN, T.T.), New York, Vol. II, S. 267 - 356
- GIESE, A.C. (1969): Effects of ultraviolet radiations on some activities of animal cells.
In: The Biologic Effects of Ultraviolet Radiation (ed: URBACH, F.), Oxford, S. 61 - 76
- GIESE, A.C., SMITH, S.G. und BERRY DAU, B.J. (1965): Effect of osmotic pressure, ionic imbalance and pH upon the regeneration rate in Blepharisma.
Exp. Cell Res. 39, 145 - 160
- GIESE, A.C. und REED, L.A. (1940): Ultraviolet radiations and cell division variation in resistance to radiations with stock, species, and nutritional differences in Paramecium.
J. Cell. Comp. Physiol. 15, 395 - 408
- GRAIG, A.G. (1971 und 1973): Theory of radiation dose-survival curves for the lose where organism is defined as loss of reproductive capacity I & II.
J. theor. Biol. I: 32, S. 259 - 267, II: 38, S. 81 - 99
- HATCHARD, C.G. und PARKER, C.A. (1956): A new sensitive chemical actinometer. II Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer.
Roy. Soc. (London), Proc., A235, 518 - 536

- HAYNES, R.H. (1966): The interpretation of microbial inactivation and recovery phenomena.
Rad.Res. Suppl. 6, 1 - 29
- HEIN, H. (1963): Vaccination against infection with Eimeria tenella in broiler chickens.
17. Welttierärztekongress Hannover
- HUG, O. und KELLERER, A.M. (1966): Stochastik der Strahlenwirkung,
Berlin, Heidelberg, New York
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (1968 und 1970): Isotopes and Radiation in Parasitology I und II, Wien
- JAGGER, J. (1958): Photoreactivation.
bacteriol. Revs. 22, 99 - 142
- JAGGER, J. (1960): Photoreactivation.
Rad. Res. (Suppl.) 2, 75 - 90
- JAGGER, J. (1967): Introduction to Research in Ultraviolet Photobiology.
Englewood Cliffs, New Jersey
- JOHNS, H.E. (1967): Photoproducts produced in nucleic acids by ultraviolet light.
In: Radiation Research (ed: G. SILINI), Amsterdam
- JOHNSON, B.F. (1961): Differential UV response induced by temperature pre-treatment.
J. Protozool. (Suppl.), 8, 18
- KIEFER, J. (1971): Target theory and survival curves.
J. theor. Biol. 30, 307 - 317
- KIEFER, J. (in Vorbereitung): Biologische Strahlenwirkungen.

KIMBALL, R.F. (1955): The effects of radiation on protozoa and the eggs of invertebrates other than insects.
In: Radiation Biology (ed: HOLLAENDER, A.), New York, Toronto, London, Vol. II, S. 285 - 331

KLIMES, B., TANIELIAN, Z. und ABU ALI, N. (1972): Excystation and development of irradiated oocysts of Eimeria tenella.
J. Protozool. 19 (3), 500 - 504

KNIPPERS, R. (1971): Molekulare Genetik. Stuttgart

LITWER, G. (1935a): Von der hemmenden Wirkung der Ultraviolett-Strahlung auf die Sporulation der Coccidien.
Arch. Protistenk. 85, 384 - 395

LITWER, G. (1935b): Der Einfluß von geringen Dosen der Ultraviolettstrahlen auf die Stabilität des Sporulationszyklus bei Kaninchencoccidien.
Arch. Protistenk. 85, 395 - 411

LITWER, G. (1938a): Susceptibility of the sporogony process in oocysts of coccidia to ultraviolet-rays as dependent upon temperature conditions and the reparative power of oocysts.
Compt. rend. Acad. Sc. URSS 20, 693 - 700

LITWER, G. (1938b): The significance of aerobic and anaerobic conditions for the effect of ultraviolet rays on processes of sporogony of coccidia from rabbits.
Compt. rend. Acad. Sc. USSR 20, 693 - 696

MENEZES, H. (1970): Essays on immunization of mice with ultraviolet radiated virulent and avirulent culture forms of Trypanosoma cruzi.
Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo 12 (5), 310 - 319

NEWCOMBE, H.B. und MCGREGOR, J.F. (1954): Dose-response relationships in radiation induced mutation. Saturation effects in Streptomyces.
Genetics 39, 619 - 627

- PASTUSZKO, J. (1973): Referat auf dem internationalen Protozoologen-Kongress in Clermont Ferrant
- PELLERDY, L. (1965): Coccidia and Coccidiosis. Budapest
- PELLERDY, L. und DÖRR, U. (1970): Zum endogenen Entwicklungszyklus von Eimeria stiedai.
Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 20, 227 - 224
- RADMAN, M., CORDONE, L., KRSMANOVIC-SIMIC, D. und ERRERA, M. (1970):
Complementary action of recombination and excision in the
repair of ultraviolet irradiation damage to DNA.
J. Mol. Biol. 49, 203 - 212
- RUPERT, C.S. (1964): Photoreactivation of ultraviolet damage.
In: Photophysiology (ed: GIESE, A.C.), New York, Vol. II,
S. 283 - 327
- RUPERT, C.S. und HARM, W. (1966): Reactivation after photobiological damage.
Advan. Radiation Biol. 2, 1 - 81
- SCHNEIDER, D., AYENI, A.D. und DÖRR, U. (1972): Sammelreferat: Zur
physikalischen Resistenz der Kokzidienoocysten.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 613 - 636
- SCHOLTYSECK, E., MEHLHORN, H. und HAMMOND, D.M. (1971): Fine structure
of macrogametes and oocysts of coccidia and related organisms.
Z. Parasitenk. 37, 1 - 43
- SCUPIN, E. (1971): Vaccinationsversuche mit Röntgenalterierten Oocysten
von Eimeria tenella bei Hühnerküken.
Habilitationsschrift, Göttingen.
- SERAPIN (1902): Zitiert bei GIESE, A.C. (1969)

- SETLOW, J.K. (1966a): Photoreactivation.
Rad.Res.Suppl. 6, 141 - 155
- SETLOW, J.K. (1966b): The molecular basis of biological effects of ultraviolet radiation and photoreactivation.
In: Current Topics in Radiation Research. (ed: M. EBERT und A. HOWARD), Amsterdam, Vol. II, S. 197 - 248
- SETLOW, R.B. (1968a): Photoproducts in DNA irradiated in vivo.
Photochem. Photobiol. 7, 643 - 649
- SETLOW, R.B. (1968b): The photochemistry, photobiology and repair of plynucleotides.
Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol. 8, 257 - 297
- SKREEB, Y. und ERRERA, M. (1957): Action des rayons u. v. sur des fragments nucléés et anucléés d'amibes.
Exptl. Cell Research 12, S. 649 - 656
- SKREEB, Y. und EGER, M. (1971): Modifications des effets du rayonnement sur les amibes. II.
Int. J. Radiat. Biol. 20, 137 - 144
- SMITH, K.C. (1966): Physical and chemical changes induced in nucleic acids by ultraviolet light.
Rad. Res. (Suppl.), 6, 54 - 79
- SMITH, K.C. (1967): Biologically important damage to DNA by photo-products other than cyclobutane-type thymine dimers.
In: Radiation Research (ed: G. SILINI), Amsterdam
S. 756 - 770
- SMITH, K.C. (1969): Biochemical effects of ultraviolet light on DNA.
In: The Biologic Effects of Ultraviolet Radiation (ed: F. URBACH), Oxford, S. 47 - 56

- SMITH, K.C. und HANAWALT, P.C. (1969): Molekular Photobiology, Inactivation and Recovery.
New York, London
- SMITH-SONNEBORN, J. (1971): Age correlated sensitivity to ultraviolet radiation in Paramecium.
Rad. Res. 46, 64 - 69
- SUTHERLAND, B.M., CARRIER, W.L. und SETLOW, R.B. (1967): Photoreactivation in vivo of pyrimidine dimers in Paramecium DNA.
Science 158, 1699 - 1700
- TIMOFEEF-RESSOVSKY, N.V., IVANOV, V.I. und KOROGODIN, V.J. (1972): Die Anwendung des Trefferprinzips in der Strahlenbiologie.
Jena.
- TROSKO, J.E., CHU, E.H.Y. und CARRIER, W.L. (1965): The induction of thymine dimer in UV-irradiated mammalian cells.
Rad. Res. 24, 45 - 52
- TYRRELL, R.M. und WEBB, R.B. (1973): Reduced dimer excision in bakteria following near ultraviolet (365 nm) radiation.
Mutation Res. 19, 361 - 364
- VARGHESE, A.J. (1972): Photochemistry of nucleic acids and their constituents.
In: Photophysiology (ed: A.C. GIESE), New York, London, Vol. VII, S. 207 - 274
- WAGENBACH, G.E. und BURNS, W.C. (1969): Structure and respiration of sporulating Eimeria stiedai and Eimeria tenella oocysts.
J. Protozool. 16, 257 - 263
- WAXLER, S.H. (1941): Immunisation against cecal coccidiosis in chickens by the use of X-rays-attenuated oocysts.
J. Am. Vet. Med. Ass. 99, 481 - 485

WEBERLING, F. und SCHWANTES, H.O. (1972): Pflanzensystematik.
Stuttgart

WHITSON, G.L. (1972): Radiation induced biochemical changes in
protozoa.
In: Concepts in Radiation Cell Biology (ed: G.L. WHITSON),
New York, London

ZETTERBERG, G. (1964): Mutagenic effects of ultraviolet and visible
light.
In: Photophysiology (ed: A.C. GIESE), New York, London,
Vol. II, S. 247 - 281

ZIMMER, K.G. (1961): Studies on quantitative Radiation biology
Edinburg, London

Herrn Professor Dr. J. Kiefer, mit dessen freundlicher Unterstützung und Beratung ich die strahlenbiologischen Versuche am Strahlenzentrum durchführen konnte, möchte ich am Schluß dieser Arbeit meinen ganz besonderen Dank aussprechen.

Herrn Professor Dr. G. Lämmle danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und sein ständiges Interesse.

Ebenso danke ich Herrn Dr. U. Dürr für seine wertvollen Anregungen und seine vielseitige Förderung, die er mir jederzeit gewährt hat.

LEBENS LAUF

von

Paul-Ulrich P i c k

Am 3. Juni 1943 wurde ich in Wangen/Allgäu geboren, seit 30.3.1972 bin ich verheiratet mit Ingrid Pick, geb. Moberg.

Meine Eltern:	Paul Pick, aktiver Offizier, gefallen am 25.1.1943 Brigitte Pick, geb. Röger, verh. seit 1948 mit Dr. Nikolaus Freiherr von Enzberg, Landrat a.D.
Mein Bildungsweg:	
1949 - 1953	Volksschule in Isny/Allgäu und in Biberach
1953 - 1955	Albertus-Magnus-Gymnasium in Rottweil
1955 - 1963	Kolleg St. Blasien
1959 - 1963	Jugenddorf-Christopherus-Schule in Altensteig
13. März 1963	Abschluß der Schulbildung durch das Abitur
Mai - Sept. 1963	Vorbereitung auf das Studium der Physik durch ein Industriepraktikum bei den Uhrenfabriken Gebr. Junghans AG, Schramberg, und bei den Kolben- gießereien Mahle KG, Rottweil/Neckar
WS 63/64 - WS 65/66	Technische Hochschule Darmstadt Fakultät Mathematik-Physik
SS 66	Universität Tübingen - Philosophische Fakultät Fachrichtung Physik
SW 66/67 - WS 70/71	Wechsel des Studienziels Studium der Veterinärmedizin an der Veterinärmedi- zinischen Fakultät der Justus Liebig Universität Gießen
SS 71	Praktikum am Städt. Schlachthof in Schwenningen und Tierarzt-Praktikum
6. Dezember 1971	Abschluß des Studiums der Veterinärmedizin mit dem Ablegen der 3. Tierärztlichen Prüfung
15. Dezember 1971	Bestallung zum Tierarzt durch den Hessischen Minister für Landwirtschaft und Umwelt, Wiesbaden
Jan. 72 - Febr. 73	Literaturstudium und experimentelle Untersuchungen am Institut für Biophysik im Strahlencentrum und am Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten der Tiere der Justus Liebig Universität Gießen
zwischenzeitlich von März 72 - Juli 72	Praktische tierärztliche Tätigkeit als Assistent des Dr. med. vet. Hülsbruch, prakt. Tierarzt in Rhynern/Westf.
seit März 1973	als Fleischbeschautierarzt angestellt bei der Stadt Schwäbisch Gmünd

